

SÉRIE A N° 1648

N° D'ORDRE :

2514

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Paul MEUNIER

Assistant à la Faculté des Sciences.

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES ANALYTIQUES SUR L'ALUMINIUM DES TISSUS
ANIMAUX.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 7¹⁹³⁶ 1936 devant la Commission d'examen

MM. GABRIEL BERTRAND . . . *Président.*
FRANCIS PERRIN . . . } *Examineurs.*
AUBEL }

LAVAL
IMPRIMERIE BARNÉOUD

1936

SÉRIE A N° 1648

N° D'ORDRE :

2514

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Paul MEUNIER

Assistant à la Faculté des Sciences.

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES ANALYTIQUES SUR L'ALUMINIUM DES TISSUS
ANIMAUX.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le juin 1936 devant la Commission d'examen

MM. GABRIEL BERTRAND . . . *Président.*

FRANCIS PERRIN . . . } *Examineurs.*

AUBEL. }

LAVAL
IMPRIMERIE BARNÉOUD

—
1936

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire..... M. MOLLIARD.
Doyen..... C. MAURAIN, Professeur, Physique du Globe.

Professeurs honoraires	H. LE CHATELIER.	Léon BRILLOUIN.	AUGER.
	H. LEBESGUE.	GOURSAT.	BLAISE.
	A. FERNBACH.	WALLERANT.	DANGEARD.
	A. LEDUC.	GUILLET.	JANET.
	Émile PICARD.	PÉCHARD.	LESPIEAU.
	Rémy PERRIER.	FREUNDLER.	MARCHIS.
			VESSIOT.

PROFESSEURS

G. BERTRAND.....	† Chimie biologique.	M. JAVILLIER.....	Chimie biologique.
M. CAULLERY.....	† Zoologie (Évolution des êtres organisés).	L. JOLEAUD.....	Paléontologie.
G. URBAIN.....	† Chimie générale.	ROBERT-LÉVY....	Zoologie.
Émile BOREL.....	† Calcul des probabilités et Physique mathématique.	F. PICARD.....	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
Jean PERRIN.....	† Chimie physique.	Henri VILLAT.....	† Mécanique des fluides et applications.
H. ABRAHAM.....	† Physique.	Ch. JACOB.....	† Géologie.
E. CARTAN.....	† Géométrie supérieure.	P. PASCAL.....	† Chimie minérale.
M. MOLLIARD.....	† Physiologie végétale.	M. FRÉCHET.....	† Calcul différentiel et Calcul integral.
L. LAPICQUE.....	† Physiologie générale.	E. ESCLANGON....	† Astronomie.
A. COTTON.....	† Recherches physiques.	M ^{me} RAMART-LUCAS	† Chimie organique.
J. DRACH.....	† Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	H. BEGHIN.....	† Mécanique physique et expérimentale.
Charles FARRY....	† Enseignement de Physique.	FOCH.....	Mécanique expérimentale des fluides.
Charles PÉREZ. .	† Zoologie.	PAUTHENIER.....	Physique (P. C. B.).
Léon BERTRAND..	† Géologie structurale et géologie appliquée.	De BROGLIE.....	† Théories physiques.
P. PORTIER.....	† Physiologie comparée.	CHRÉTIEN.....	Optique appliquée.
E. RABAUD.....	† Biologie expérimentale.	P. JOB.....	Chimie générale.
M. GUICHARD.....	Chimie minérale.	LABROUSTE.....	Physique du Globe.
Paul MONTEL.....	† Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	PRENANT.....	Zoologie.
P. WINTREBERT..	† Anatomie et histologie comparées.	VILLEY.....	Mécanique physique et expérimentale.
L. BLARINGHEM..	† Botanique.	BOHN.....	Zoologie (P. C. B.).
O. DUBOSQ.....	† Biologie maritime.	COMBES.....	Botanique (P. C. B.).
G. JULIA.....	† Mécanique analytique et Mécanique céleste.	GARNIER.....	† Mathématiques générales.
G. MAUGUIN.....	† Minéralogie.	PÉRES.....	Mécan. théor. des fluides.
A. MICHEL-LÉVY.	† Pétrographie.	HACKSPILL.....	Chimie (P. C. B.).
H. BÉNARD.....	† Mécanique expérimentale des fluides.	LAUGIER.....	Physiologie générale.
A. DENJOY.....	† Application de l'analyse à la Géométrie.	TOUSSAINT.....	Technique Aéronautique.
L. LUTAUD.....	† Géographie physique et géologie dynamique.	M. CURIE.....	Physique (P. C. B.).
Eugène BLOCH....	† Physique théorique et physique céleste.	G. RIBAUD.....	† Hautes températures.
G. BRUHAT.....	Physique.	CHAZY.....	† Mécanique rationnelle.
É. DARMOIS.....	Enseignement de Physique.	GAULT.....	Chimie (P. C. B.).
A. DEBIERNE.....	† Physique Générale et Radioactivité.	CROZE.....	Recherches physiques.
A. DUFOUR.....	† Physique (P. C. B.).	DUPONT.....	† Théories chimiques.
L. DUNOYER.....	Optique appliquée.	LANQUINE.....	Géologie.
A. GUILLIERMOND.	† Botanique.	VALIRON.....	Mathématiques générales.
		BARRABÉ.....	Géologie structurale et géologie appliquée.
		MILLOT.....	Zoologie (P. C. B.).
		F. PERRIN.....	Théories physiques.
		VAVON.....	Chimie organique.
		G. DARMOIS.....	Calcul des Probabilités et Physique-mathématique.

Secrétaire..... A. PACAUD.
Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK.



A LA MÉMOIRE DE

Monsieur BIZARD

Inspecteur principal de l'Artillerie Navale

A TOUS LES MIENS

A MON MAÎTRE

M. GABRIEL BERTRAND

Membre de l'Institut
Membre de l'Académie de Médecine
Ancien Président de l'Académie d'Agriculture
Professeur à la Faculté des Sciences
et à l'Institut Pasteur

Avec l'expression de ma respectueuse gratitude.

INTRODUCTION

L'étude approfondie de la composition élémentaire des êtres vivants a été une source féconde de progrès en Chimie et en Biologie. Cette étude a l'avantage d'offrir aux recherches un but déterminé d'où les questions vagues sont exclues.

Pour le chimiste, il s'agit de reconnaître, puis de doser un élément donné dans les tissus des plantes ou des animaux. Mais croyant arriver au terme de son analyse le chercheur voit la liste des quatorze ou quinze éléments de la matière vivante s'allonger encore. C'est sous l'impulsion de Gabriel Bertrand et de ses travaux que cette investigation devint méthodique et complète. En même temps, le problème chimique se compliqua de plus en plus. Pour en poursuivre la solution, il fallut s'adresser aux réactions les plus fines des éléments, et souvent perfectionner l'analyse elle-même. Grandes doivent être la vigilance et l'ingéniosité du chimiste pour découvrir et même doser d'infimes quantités de bore, d'arsenic, de nickel, de cobalt, dans la matière vivante. La Chimie analytique bénéficie largement de ces recherches : la colorimétrie, la spectrographie en tirent un nouvel essor.

Le biologiste, lui, se demande si l'élément découvert par l'analyse, même en très faible proportion, est indispensable à la vie, et quel peut être son rôle. Parfois, les résultats de l'analyse le font directement entrevoir, en particulier lorsqu'on a pu localiser l'élément dans des organes déterminés ou mieux

encore le trouver combiné dans des principes immédiats. Tels furent les cas de l'iode dans la thyroïde, isolé ensuite avec la thyroxine, de divers métaux, engagés dans des pigments respiratoires, comme le fer, le cuivre, le manganèse et même le vanadium. Citons enfin l'intervention du manganèse dans les oxydations provoquées par la laccase (G. Bertrand, 1894).

Ainsi, la connaissance complète de la composition élémentaire des organismes se montre très précieuse pour l'analyse des phénomènes chimiques de la vie. Mais souvent on doit encore se contenter d'une réponse globale à la question posée plus haut. L'élément donné est-il indispensable à la vie ? On compose les milieux de culture ou des régimes chimiquement définis ; on les offre à des plantes ou à des animaux en retirant l'élément étudié. Le développement de la culture ou de l'élevage fournit directement la réponse cherchée. C'est une méthode synthétique dont Raulin a donné le premier exemple, en 1870, avec l'*Aspergillus niger*. On comprend que moins l'élément étudié est abondant, plus est difficile l'application de cette méthode. Mais les résultats n'en sont pas moins probants. Parmi les plus frappants, citons la démonstration donnée par G. Bertrand, après perfectionnement de la technique de Raulin, du caractère indispensable du Mn dans la culture de la moisissure : le métal manifeste encore son action favorable à l'extrême dilution de un dix-milliardième. Dans le règne animal les résultats de la méthode synthétique, plus récents, ne sont pas moins curieux. On voit l'absence totale du Mn, du Zn ou même du Ni d'un régime conduire les souris aussi vite à la mort que l'absence du fer (G. Bertrand et divers collaborateurs). Enfin, très récemment, G. Bertrand et Battacharjee ont montré que les vitamines ne peuvent manifester leur action en l'absence de zinc [21].

On peut espérer étendre cette liste et découvrir des faits analogues, qui, en dehors de l'intérêt théorique qu'ils présentent, tendent à l'application en nous faisant mieux connaître

les besoins des êtres vivants. Mais tout cela suppose à la base une méthode d'analyse rigoureuse. C'est faute d'un tel outil de travail que bien des acquisitions de cet ordre doivent être remises en question. Tels sont les faits relatifs à la présence de l'aluminium dans les tissus des animaux.

Des préoccupations d'hygiène alimentaire attirèrent l'attention sur ce métal. De nombreux travaux furent publiés où diverses hypothèses étaient énoncées ou considérées comme démontrées relativement à l'introduction, au rôle et aux méfaits de ce métal dans l'organisme des animaux.

Mais à travers toutes ces publications, le problème de l'aluminium *normal* des animaux restait à peu près entier. Et G. Bertrand pouvait encore dire à son cours, en 1935, que cette question devait être entièrement reprise.

C'est comme nous le verrons la difficulté du problème analytique qui fut la cause de ce retard. Près de M. G. Bertrand, dont je suis le préparateur depuis 1931, j'ai souvent songé à cette pensée de Claude Bernard, qu'« une bonne technique rend quelquefois plus de services à la science que le perfectionnement des hautes spéculations philosophiques ».

On trouvera dans ce mémoire la plus grande place occupée par la recherche expérimentale d'une « bonne technique » adaptée au dosage de l'aluminium dans les tissus animaux.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

PREMIÈRE PARTIE

TRAVAUX ANTÉRIEURS. EXPOSÉ. EXAMEN CRITIQUE

CHAPITRE PREMIER

EXPOSÉ DES RECHERCHES EFFECTUÉES SUR L'ALUMINIUM DES TISSUS ANIMAUX

A. — *Premières publications isolées.*

Jusqu'en 1911, rares sont les publications annonçant la présence de l'Al dans des produits d'origine animale. La première paraît être celle de de Bibra, en 1845, qui trouve de l'Al dans le muscle [22 *bis*]. Ce travail est cité par M. G. Bertrand dans son cours.

Dans une revue bibliographique publiée en 1904 par Langworthy et Austen [55] sur la répartition de l'Al dans les produits naturels, deux pages seulement sont consacrées au règne animal. Les 130 autres pages de l'ouvrage sont remplies de références relatives aux produits végétaux et aux eaux naturelles. Nous ne reproduirons pas ici l'énumération de ces travaux, dont les auteurs sont en général peu explicites sur la méthode analytique qu'ils emploient. Rarement une estimation

quantitative a été tentée. Exceptons Schütze qui, en 1883 [78], signale 9,52 p. 100 de Al_2O_3 dans les cendres du manteau d'une Ascidie, *Phallusia mammillaris*.

Tout ce qu'on peut conclure des autres publications, c'est que l'Al ne paraît pas très abondant dans le règne animal.

Mais c'est tout à fait incidemment que cette recherche a été effectuée.

Il faut attendre le xx^{e} siècle pour trouver sur ce sujet des travaux systématiques dus à des préoccupations que nous allons brièvement rappeler.

B. — *Recherches systématiques.*

Depuis une trentaine d'années, l'emploi des levains minéraux s'est fort répandu dans l'économie domestique. Ces produits sont constitués par un mélange de bicarbonate de sodium et d'un sel acide qui, aux Etats-Unis, est le plus souvent de l'alun de sodium.

D'autre part, l'usage des ustensiles de cuisine en Al s'étend de plus en plus.

Il y a là deux causes quotidiennes d'introduction de ce métal dans l'organisme. Une question importante liée à la toxicité de ce métal se posait alors, surtout pour les hygiénistes américains (1). L'Al ingéré est-il retenu par l'organisme ? Mais alors la connaissance de la teneur en *Al normal* des tissus devint nécessaire. Ainsi fut posé le problème biologique qui nous intéresse.

La question était pressante, des intérêts étaient en jeu, et la difficulté du problème analytique, comme nous le verrons, était grande. Aussi assistons-nous à des tentatives nombreuses, dont les conclusions contradictoires donnèrent naissance à des

(1) L'usage des levains minéraux à base d'alun est interdit par la législation des pays européens.

polémiques fréquentes, souvent violentes. On peut en voir le reflet in Lehmann (1931) [58]. On alla jusqu'à prétendre que l'ingestion d'Al favorisait le développement du cancer. Plus tard, M. G. Bertrand et Serbesco [20] firent justice de ces affirmations et montrèrent par la comparaison des doses mortelles pour le lapin et le cobaye que les sels d'Al ne paraissaient pas plus toxiques que les sels de Fe et moins que ceux de Cu ou de Ni [19].

Pour l'exposé qui suit, nous avons fait un choix. N'y figurent que les travaux reposant sur une méthode d'analyse clairement décrite. Et nous avons groupé ces publications sous 3 rubriques principales, suivant le type d'analyse utilisée. Sous la forme de tableaux chronologiques, les comparaisons seront plus aisées.

a) L'Al EST DOSÉ PAR DIFFÉRENCE					
Date	Référence n°	Auteurs	Description très sommaire de la technique suivie	Animaux et organes analysés	Résultats limites extrêmes (4)
1911	82	Steel.	Attaque nitro-sulfurique. Pesée de P_2O_5 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 . Détermination de Fe par MnO_4K et de P séparément.	Chien : sang après ingestion d'Al. Fèces.	1 mgr. 5 à 6 mgr. par kgr. (sang).
1918	45	Gonnermann.	Pesée de Al_2O_3 , Fe_2O_3 . Dosage de Fe (Méthode non donnée). L'auteur ne tient pas compte de P.	Chien, chat, homme (normaux).	0 gr. 4 à 0 gr. 9 par kgr. de m. s.
1928	77	Schaeffer, Fontès, Le Breton, etc.	Pesée de P_2O_5 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 . Dosage séparé de Fe par la méthode de Fontès et Thivolle, et du P par le phosphomolybdate.	Souris, poulets nourris avec alun (viscères).	17 à 147 mgr. par kgr. de m. f.
b) L'Al EST DOSÉ PAR PESÉE A L'ÉTAT DE PO_4Al					
Date	Référence n°	Auteurs	Technique résumée	Animaux et organes analysés	Résultats extrêmes
1912	79	Schmidt et Hoagland.	Destruction par SO_4H_2 , puis fusion alcaline. Réduction du Fe par $SnCl_2/NH_4Cl$ et pesée de PO_4Al précipité seul en milieu acétique.	Fèces d'homme ingérant ou non de l'Al.	3 à 4 mgr. par jour.
1930	67	Mackensie.	Cf. précédente.	Fèces de porcs et rats nourris avec Al.	Excrétion égale à ingestion.
1933	89	J. Wührer.	Incinération et méthode précédente.	Chiens nourris avec Al.	Chiffres normaux : ceux des auteurs précédents.

c) L'Al EST ÉVALUÉ PAR COLORIMÉTRIE

1928	70	Myers, Mull et Morrison.	Destruction de la matière organique par ClO_2H + SO_4H_2 . Précipitation de PO_4Al + PO_4Fe . Elimination du fer par NaOH , qui dissout PO_4Al seul. Production d'une laque colorée avec le corps cité. Colorimétrie à pH 7,4.	Chiens et hommes (divers organes).	Rate 0 mgr. 7. Foie 4 mgr. 5. par mgr. m. f.
1929	87	Winter, O. Bird et Thrun.	Id.	Aliments : bœuf, lait, poissons.	43 mgr. par mgr. m. f.
1931	67	Mackensie.	Id.	Porcs, rats normaux.	48 mgr. par mgr. m. f.
1932	83	Steudel.	Id.	Rats nourris avec alun pendant 4 générations.	Rate 0 mgr. 03. Cœur 0 mgr. 06 par mgr. m. f.
1932	32	Cox, Schwartz, etc.	Incinération dans quartz. Puis même méthode sans modifications de détails.	Aliments cuits ou non dans ustensiles en Al : poulet	0 mgr. 2 à 4 mgr. par mgr. de m. f.
1933	38	Eveleth et Myers.	Comparaison de diverses méthodes d'analyse.		
<i>2. Avec l'alizarine S.</i>					
1929	86	Underhill, Petermann, etc.	Incinération, dissolution des cendres dans SO_4H_2 . Elimination de Fe par entraînement dans l'éther du sulfocyanate ferrique. Colorimétrie avec l'alizarine en présence de glycérol et d'acide citrique à pH 3,6 à 3,8.	Chiens, hommes, divers organes	6 à 50 mgr. par mgr. m. f. Excrétion d'Al par la bile.
<i>d) L'Al EST PRÉCIPITÉ PAR L'OXYQUINOLÉINE</i>					
1931	57	Lehmann.	Destruction des matières organiques par SO_4H_2 et NO_3H . Elimination du Fe par entraînement du sulfocyanate ferrique dans l'éther. Précipitation de l'Al en solution tartrato-ammoniacale par l'o-oxyquinoléine. Dosage pondéral ou volumétrique par oxydation de l'oxyquinoléine combinée au moyen d'une solution titrée de brome.	Aliments : viandes de bœuf (muscle, foie...).	4 à 70 mgr. par mgr. m. s.

(1) m. s. signifie matière sèche et m. f. matière fraîche.

e) RECHERCHES SPECTROGRAPHIQUES

Date	Référence n°	Auteurs	Technique suivie	Animaux et organes analysés	Résultats
1898	36	R. Dubois.	Spectres de cendres par étincelles.	Divers tissus.	(+).
1927	65	Mc. Collum, Rask Id. et Becker.		Rats.	< 0,5.10 ⁻⁶ .
1929	52	Kahlenberg et Closs.	Spectres de cendres dans un arc.	Divers.	Toujours + non dosé.
1930	6	Azéna et Pied.	Spectres dans l'arc.	Sang des tuniciers.	(+).
1931	34	Dee Tourtellotte et Rask.	Spectres d'arcs et d'étincelles de divers mélanges salins.	Rat.	0 mgr. 5 à 2 mgr. p. kgr. m. l.
1931	62	Lewis.	Spectres d'arcs.	Homme normal (sang) après ali- mentation char- gée en Al.	(-) ou < 0,3.10 ⁻⁶ ; 0,2 à 5.10 ⁻⁶ .
1934	84	Swings.		Poumons humains (maladies de poussières).	Abondant (?)
1935	63	Lindemann.	Cendres sur anode de Cu.	Chien.	(+).

CHAPITRE II

EXAMEN CRITIQUE DES MÉTHODES D'ANALYSE CITÉES

A. — *Remarques générales.*

Nous n'examinerons ici que les travaux cités au paragraphe B du précédent chapitre ; les premières publications, relevées en A, échappent à la critique faute de renseignements sur les méthodes chimiques employées.

En parcourant les tableaux précédents on est immédiatement frappé par la diversité des résultats obtenus, aux points de vue quantitatif et même qualitatif. La recherche est encore quelquefois négative (Spectrographie).

Ces divergences correspondent-elles à la réalité ? Et dans ce cas la présence de l'Al dans les tissus animaux serait accidentelle. Ou bien au contraire sont-elles dues à l'importance des erreurs commises ?

Les erreurs commises dans de telles recherches tiennent principalement à 3 causes :

La contamination au cours des prélèvements, les impuretés des réactifs, les défauts de la méthode d'analyse elle-même.

Bien que la plupart des auteurs donnent peu de précisions à son sujet, la première cause d'erreur semble peu importante, car le prélèvement des tissus animaux est, *en général*, moins sujet à la contamination que la récolte des produits végétaux (poussières du sol, traces de terre adhérentes, etc.). Quant à la purification des réactifs, souvent aussi brièvement décrite,

elle semble avoir été obtenue en général par les auteurs (Résultats d'essais témoins).

Restent les défauts possibles des méthodes d'analyse employées. C'est là sans doute l'origine la plus importante des variations constatées dans les résultats. Disons tout de suite que la difficulté de l'analyse réside, d'une part, dans l'extrême petitesse des teneurs en Al des tissus animaux et, d'autre part, dans la présence d'éléments gênants en grand nombre.

Voici le tableau des principaux éléments que l'on retrouve après destruction de la matière organique dans les produits d'origine animale :

P	Ca	Si	Fe	Cu	Mo
S	Mg	Ti	Zn	Mn	Va
Cl	K			Ni	
Br	Na			Co	
I					
B et As					

La connaissance de ce tableau est indispensable pour conduire la discussion qui suit.

B. — *Examen de chaque méthode en particulier.*

a) LE DOSAGE DE L'AL PAR DIFFÉRENCE

Comme toute analyse indirecte, cette méthode présente l'inconvénient de ne pas *séparer le corps dosé* à l'état de pureté. On pèse un précipité complexe dans lequel l'Al est engagé ; on y dose les éléments étrangers et le métal est calculé par différence.

Le précipité obtenu par action des phosphates en milieu acétique est principalement constitué par un mélange de PO_4Al et de PO_4Fe , auquel s'ajoutent un peu de SiO_2 et de TiO_2 .

Mettons à part le travail de Gonnermann [43] dans lequel on

devine, malgré l'obscurité du texte, que l'on n'a pas tenu compte du phosphore, ni encore moins de SiO_2 , etc... Cela explique les chiffres si élevés donnés par cet auteur : Tout le P, le Si, etc... sont comptés en Al.

Mais, déjà en 1911, Steel, reprenant un procédé de dosage officiel aux Etats-Unis, celui de l'*Association of official agricultural chemists*, avait dosé dans le précipité précédent séparément P et Fe. Mais Si est toujours compté comme Al.

Les auteurs français qui en 1828 avec Schaeffer [77] ont adopté cette méthode ont eu soin de bien éliminer la silice avant d'effectuer la précipitation des phosphates. De plus ils ont dosé Fe et P avec plus de précision que précédemment. Le premier a été évalué par la méthode de Fontès et Thivolle et le second suivant le procédé de Neumann-Gregersen (Dosages volumétriques, tous deux cités par Schaeffer [77]). La précision obtenue sur le poids de Al_2O_3 du précipité est certainement bien supérieure à celle des méthodes précédentes. Malgré cela, la teneur des *tissus normaux* en Al est si faible que les erreurs commises peuvent en s'ajoutant rendre illusoire le résultat final.

Les auteurs cités n'ont d'ailleurs pas donné de chiffres relatifs à des souris ou des poulets soumis à un régime sans Al.

b) DOSAGE PONDÉRAL A L'ÉTAT DE PO^4Al

Il s'agit ici d'une méthode due à Carnot [29] pour le dosage de petites quantités d'Al dans les fontes et les aciers.

En solution acide, le fer ferrique est réduit en sel ferreux par l'hyposulfite de Na à chaud. Ensuite par addition de phosphate et en milieu acétique on précipite l'Al seul.

Schmidt et Hoagland [79] ont substitué au sel de Na l'hyposulfite d'ammoniaque dans l'application au dosage de l'Al dans les fèces.

Dans les publications postérieures, cette méthode est toujours attribuée aux auteurs américains.

L'expérience nous a montré que la précipitation de PO_4Al seul est très difficile à obtenir lorsqu'il n'y a que des traces de ce métal (moins 0 de mgr. 5 env. par essai).

Remarquons du reste que cette méthode n'a pas été appliquée à des tissus normaux, même par Würher, qui a dosé ainsi de petites quantités d'Al [89].

c) DOSAGES COLORIMÉTRIQUES

Ce sont des méthodes spécialement adaptées au dosage de très petites quantités d'Al, de l'ordre du dixième de milligramme. Déjà appliquées à des tissus animaux normaux elles méritent un examen détaillé.

1° *Emploi de l'acide aurinetricarbonique.*

La technique de Myers, Mull et Morrison [70], souvent reprise par la suite, comprend, après une destruction des tissus par les acides perchlorique et sulfurique, l'isolement du fer et de l'Al à l'état de phosphates précipités en milieu acétique. Cette opération est quantitative si, comme l'ont montré les auteurs américains, il y a un excès de fer ferrique (1 mg. au moins). (Voir Ch. V de la deuxième partie de ce mémoire).

Le précipité est ensuite dissous dans HCl. L'addition d'un excès de NaOH laisse le phosphate d'Al dissous, mais précipite tout le fer à l'état de sesquioxyde. La solution ainsi obtenue, contenant non seulement tout l'Al, mais aussi tout le phosphore des phosphates précédents, est amenée à pH convenable, 4 à 5, avec HCl et $\text{CH}_3 - \text{CO}_2\text{H}$.

On peut alors produire, par addition d'une solution d'un colorant particulier, le sel d'ammoniaque de l'acide aurinetricarbonique, une laque colorée rouge. En élevant aux environs de

7,3 le pH de la solution par un mélange de CO^3Am^2 et de $\text{NH}\cdot\text{OH}$, on décolore l'excès de colorant. Il ne reste plus qu'à comparer l'intensité de la couleur résiduelle à celle des tubes étalons préparés dans les mêmes conditions.

C'est cette dernière partie de la méthode qui est la plus délicate. La réaction colorée avec l'acide aurine-tricarbone, due à Hammett et Sottery [47] est très sensible $\left(\frac{1}{10^7} \text{ env.}\right)$ par contre elle n'est pas spécifique de l'Al et son intensité dépend de nombreux facteurs.

Sans doute, les métaux gênants sont, dans la technique de Myers, Mull et Morrison, bien éliminés. Même le titane non cité par ces auteurs est retenu avec le fer, comme nous l'avons vérifié.

Mais l'intensité de la coloration finale due à l'Al est sous la dépendance de conditions variées. Déjà Yoe et Hill [90] en 1927 avaient reconnu l'influence des phosphates sur cette réaction. En 1929, Winter et O. Bird [87] déterminent les conditions optima de pH, de température et de concentration des sels d'ammoniaque. Plus tard, en 1932, Cox, Schwartze, Hahn et Unangst montrent l'influence du mode d'agitation [32].

On trouve dans la littérature scientifique très peu de travaux relatifs à la théorie de ces réactions par laques dont l'emploi se répand de plus en plus en chimie analytique. Citons une publication de Thrun qui, en 1929 [83], a fait une étude des laques solubles de l'acide aurinetricarbone, et qui parle de l'adsorption du colorant sur des oxydes métalliques en milieu faiblement acide.

Nous aidant de ce travail et d'autres plus anciens, nous proposons la théorie suivante, qui nous paraît plausible. Lorsque l'on alcalinise progressivement une solution acide de sel d'Al, on constate que la courbe représentant le pH du mélange (déterminé par la méthode électrométrique) en fonction de la quantité d'alcali ajoutée, présente un point singulier à pH 3 env.

(Blum [22] puis Britton [27]). A ce moment, la pente diminue brusquement, c'est que la précipitation de l'alumine commence pour être complète à pH 7 env. Plus loin la redissolution de l'alumine correspond à un second plateau vers pH 11. Mais, au sens chimique courant, la précipitation de l'alumine ne commence qu'à pH 7. Entre les pH 3 et 7 les particules d'alumine sont encore chargées d'électricité; elles flocculent, perdent leur charge et deviennent visibles à pH 7. C'est dans cet intervalle d'acidité que les particules d'alumine peuvent fixer par adsorption une partie des *ions colorés*. Cette fraction de colorant répartie sur un volume infiniment plus grand que celui de ses propres ions acquiert alors un pouvoir absorbant bien plus intense (1). C'est l'apparition de la laque.

On comprend que tout traitement, tout corps modifiant ou les particules d'alumine ou les ions colorés ait de l'influence sur l'intensité de la laque. En particulier, on prévoit que l'ion phosphorique qui précipite l'alumine dans l'intervalle de pH considéré sera *nuisible* à la formation de la laque. On le vérifie aisément. Au spectrophotomètre de Féry, en opérant dans le bleu, on trouve qu'il faut, pour produire la même absorption lumineuse, 0 mgr. 015 d'Al sans phosphates, 0 mgr. 018 d'Al avec 2 mgr. de P, et 0 mgr. 020 d'Al avec 5 mgr. de P dans les mêmes conditions.

Or, dans les expériences de contrôle de Myers, Mull et Morrison, la quantité de fer mise en jeu ne dépasse jamais 2 mgr., ce qui correspond à 1 mgr. de P présent lorsque la laque se forme. Cette quantité peut être tenue pour négligeable; mais dans les tissus riches en fer, comme le sang, la rate..., la quantité de P est beaucoup plus importante et diminue considérablement les résultats.

(1) L'application de la formule de Lord Rayleigh, voir Boutaric [25] rend compte de ce fait.

La méthode a d'ailleurs, entre les mains de différents auteurs, donné des chiffres très variables.

Ajoutons que l'explication proposée plus haut accorde les résultats de Britton [27] avec les conditions de formation des laques d'autres métaux, comme le Fer, le Chrome.

2° Avec l'alizarine.

La coloration que donnent les sels d'Al avec une solution alcoolique d'alizarine traitée par des vapeurs acétiques a été signalée pour la première fois par Behrens [10]. Atack, en 1915, l'a utilisée au dosage colorimétrique de l'Al [4].

La première application aux tissus animaux semble être celle de Gray (Citée par Smith [81]).

En 1929, Underhill et Petermann [86] ont étudié en détail cette réaction. Ils ne pensent pas avoir affaire à une *laque*. Cela semble justifié par le fait que la présence de glycérol destinée à éviter la précipitation de PO_4Al n'atténue pas la coloration obtenue (Contrairement à ce qui a lieu avec l'acide aurintricarbone). Grâce à ce fait, Underhill et Peterman se mettent à l'abri de l'influence nuisible du phosphore ; ils associent même l'acide citrique au glycérol.

Malheureusement, l'alizarine donne des colorations avec de nombreux métaux, Fe, Mn, Zn, etc., ainsi que l'a montré Eegriwe [37] dans un travail précis. C'est surtout le fer qui gêne ; et le mode d'élimination choisi ici est très incertain : enlèvement par l'éther du sulfocyanate ferrique. Nous l'avons essayé ; il dépend de l'acidité du milieu et de la quantité de phosphore présente. D'autre part, si, en suivant la technique décrite, on réussit parfois à éliminer le fer, on n'enlève jamais le Mn ni le Zn, toujours présents dans les tissus animaux.

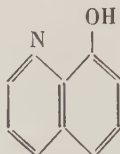
Cela explique sans doute les résultats relativement très élevés obtenus par Underhill et ses collaborateurs.

C'est la conclusion à laquelle ont abouti Eveleth et Myers

dans une étude comparative des microdosages (1) de l'Al, en 1933 [38].

d) MÉTHODE A L'OXYQUINOLÉINE

Depuis longtemps, on sait que l'ortho-oxyquinoléine, répondant à la formule :



précipite quantitativement l'Al en solution tartro-ammoniacale.

Dans un tel milieu, la présence de phosphates ne gêne pas.

Le précipité recueilli peut être pesé après avoir été desséché ; on peut encore y doser l'oxyquinoléine combinée par le brome. C'est ce qu'a fait Lehmann [57].

Mais beaucoup d'autres métaux précipitent dans les mêmes conditions ; et ici encore c'est le fer qui est le plus important (voir Revue par Cattelain [30]).

Or, Lehmann a employé pour éliminer ce métal le procédé au sulfocyanate déjà utilisé par Underhill et Peterman. Nous venons de signaler son incertitude.

Lehmann trouve des différences considérables entre divers échantillons de viandes de bœuf.

e) RECHERCHES SPECTROGRAPHIQUES

L'application à l'aluminium de cette méthode physique d'analyse souvent si sensible a tenté quelques chercheurs.

L'Al ne possédant pas de raies visibles dans les flammes,

(1) Nous appellerons ainsi dans ce mémoire toute méthode de dosage applicable à des quantités d'Al voisines du dixième de mgr.

c'est par son doublet en ultraviolet (3.961-3.944) (raies ultimes) que l'on peut seulement l'identifier. Mais ce doublet est encadré par deux raies du Ca toujours très abondant dans les cendres animales. Aussi, ne faut-il pas s'étonner de voir Mac Collum, Rask et Becker, dont les recherches avaient été négatives, accuser Kalhenberg et Closs d'avoir confondu les raies de l'Al avec celles du Ca [66].

Ces derniers s'en défendent et prennent à témoin les résultats des chimistes Underhill et Peterman [53].

En 1931, Dee Tourtellotte et Rask font une étude critique des conditions de la recherche spectrale de l'Al. Ils voient dans l'emploi de l'étincelle et la présence de carbone non brûlé dans les cendres les raisons de l'échec de Mac Collum, Rask et Becker. Puis ils tentent une estimation quantitative fondée sur la recherche de la concentration en Al correspondant à la disparition de chacune de ses deux raies ultimes. Leur recherche est toujours positive dans les divers organes du rat.

La même année, Lewis soumet le sang humain à l'épreuve de l'arc. Il ne trouve pas d'Al (moins de $\frac{4}{3.40^6}$) dans les cas normaux.

Enfin, plus récemment, en 1935, Lindemann trouve de l'Al dans les organes du chien [63].

Réserveons la valeur quantitative des résultats obtenus par ces auteurs. Au seul point de vue qualitatif, la méthode spectrale, qui se heurte d'une part à la faible intensité des raies de l'Al et de l'autre à la difficulté d'obtention d'électrodes privées de toute trace de ce métal, ne semble pas devoir entraîner la conviction.

CHAPITRE III

EXAMEN DE MÉTHODES D'ANALYSE NON ENCORE APPLIQUÉES AUX TISSUS ANIMAUX

La critique précédente nous facilitera cet examen.

A. — *Méthode de Berthelot et André* [11].

Elle dérive de la technique de Carnot, que nous avons déjà citée [29]. Appliquée aux cendres végétales, elle comprend essentiellement les opérations suivantes :

1° Elimination de la plus grande partie de la silice par insolubilisation dans l'acide nitrique à siccité.

2° Dissolution du résidu dans NO^3H étendu et neutralisation du filtrat par CO^3Na^3 . Addition d'hyposulfite de sodium et précipitation à ébullition du phosphate d'Al. De l'alumine et du soufre précipitent aussi, mais tout le fer reste en solution.

3° Dissolution du précipité dans NO^3H dilué, puis addition de molybdate d'ammoniaque en excès, qui précipite tout le phosphore à l'état de phosphomolybdate.

4° Neutralisation de la liqueur filtrée par l'ammoniaque en présence d'un sel d'ammoniac. Précipitation à ébullition de toute l'alumine de la solution.

Pesée de cette dernière après purification par une double redissolution.

Cette méthode est très sûre, puisqu'elle aboutit à l'isolement

à l'état de pureté du corps dosé, l'alumine. Mais elle n'est pas applicable à de petites quantités de métal, de l'ordre du mgr.

B. — Méthode de G. Bertrand et Mme Lévy [16 et 61].

Ces auteurs pour doser l'Al dans les plantes ont modifié la méthode précédente. Ils ont évité l'introduction de molybdate et préféré la pesée à l'état de PO_4Al plus sensible. Ils ont de plus substitué avec avantage le bisulfite d'ammoniac à l'hypo-sulfite de sodium pour la réduction du sel ferrique. Voici la suite des opérations :

1° Elimination de la presque totalité de la silice par insolubilisation dans HCl.

2° Précipitation des phosphates de Fe et d'Al en milieu acétique et en présence de CINH^+ .

3° Redissolution du précipité dans HCl. Réduction des sels ferriques par SO_3HNH^+ .

4° Précipitation de PO_4Al seul en milieu acétique et à chaud. Pesée de ce corps.

Cette méthode joint à la précision la sécurité de l'analyse pondérale. Mais la précipitation de très petites quantités d'Al étant difficile, la méthode ne peut s'appliquer aux animaux sans modification spéciale (Voir II^e partie, chapitre V).

C. — F. Alten, Welland et Knippenberg [2].

En 1934, ces auteurs ont décrit un microdosage de l'Al fondé sur l'élimination presque complète du P à l'état de PO_4Li^3 , et la production d'une laque avec l'ériochrom-cyanine. La petite quantité résiduelle de P ne nuit pas à la formation de la laque. Par contre, comme l'a montré Eegriwe, dans le mémoire déjà cité [37], de nombreux autres métaux donnent des produits colorés avec l'ériochrom-cyanine.

Aussi, Alten a-t-il repris récemment avec d'autres collaborateurs l'isolement préliminaire de l'Al, en même temps d'ailleurs que l'élimination du P [3].

Alten sépare d'abord le P à l'état de phosphomolybdate, puis l'Al est entraîné par adsorption sur un sel d'uranyle à l'exclusion des autres métaux. Lorsqu'il s'agit de quantités de métaux de l'ordre du $\frac{1}{10}$ de mgr. ces opérations paraissent très laborieuses et peu sûres.

D. — Méthodes à l'oxyquinoléine.

Jung, en 1932 [49], puis Alten, Weiland et Loofman [1] ont utilisé différemment l'oxyquinoléine pour le dosage de l'Al dans des milieux complexes. Le premier pèse le précipité obtenu, les seconds terminent par un dosage colorimétrique de l'oxyquinoléine combinée.

Pour éviter l'influence des phosphates, on opère comme Lehmann en milieu tartroammoniacal.

Et pour éliminer le fer on utilise soit H_2S (Jung [49]), soit, après précipitation par l'urotropine des phosphates de Fe et d'Al, la redissolution de ce dernier dans NaOH. Dans les deux cas c'est la solution qui est conservée avec l'eau de lavage d'un précipité.

Nous avons expérimenté ces séparations. Nous aurons l'occasion de revenir plus loin sur le grave inconvénient de l'emploi de l'urotropine à côté de ses avantages. Disons seulement que du fer ferreux est entraîné en même temps que l'Al à la fin de l'analyse.

Dans le procédé à H_2S , d'autres métaux comme Ti ne sont pas enlevés et doivent être l'objet d'une nouvelle opération analytique. Jung emploie le cupferron, et filtre. La séparation est, dans ces conditions, très délicate. Nous y reviendrons.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTABLISSEMENT ET DESCRIPTION DE LA MÉTHODE D'ANALYSE ADOPTÉE

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE DE LA PRÉCIPITATION DE L'Al PAR LE CUPFERRON AUX GRANDES DILUTIONS

A. — *Remarques préliminaires.*

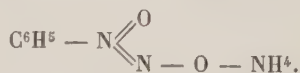
L'examen critique précédent nous a incité à rechercher ailleurs que dans les méthodes déjà proposées le principe d'un microdosage de l'Al qui, tout en restant simple et sûr, réponde aux exigences de l'application aux tissus animaux.

Mais nous n'y sommes pas parvenu d'emblée; c'est lentement que dans cette voie nous avons acquis les faits et levé les difficultés. Dans les chapitres de cette deuxième partie, nous suivrons l'ordre même de nos recherches analytiques. Elles sont en quelque sorte la base théorique du dosage que nous avons adopté pour notre investigation biologique. Si parfois l'exposé peut paraître un peu ralenti, c'est que nos préoccupations se rattacherent à d'autres plus générales qui ne nous ont pas semblé vaines.

B. — *Historique.*

Nous nous sommes adressé à une réaction de l'Al dont la première indication se trouve dans un important mémoire de Pinkus et Martin (1927 [71]).

Ces auteurs ont déterminé de façon systématique les solubilités des dérivés métalliques du cupferron, réactif découvert par Baudisch [8] et répondant à la formule :



En milieu aqueux, les sels métalliques sont fréquemment polymérisés (les précipités sont résinifiés). C'est le cas pour l'Al (Pinkus et Martin [71]). Mais Pinkus et Martin ont vu que dans les solutions diluées d'Al le Cupferron produisait un précipité colloïdal.

La même année, Brouckère et Belcke [33] décrivaient un procédé de dosage colorimétrique de l'Al fondé sur cette réaction. Ils ne l'appliquaient qu'à des solutions simples d'Al en signalant que de grandes quantités de Zn et de Ni ne gênaient pas.

C. — *Etude personnelle.*

a) PREMIÈRES REMARQUES.

Nous avons d'abord précisé les conditions de la réaction précédente. Les auteurs belges indiquent qu'il faut opérer en milieu légèrement acide, pour éviter l'hydrolyse, disent-ils, et ils se placent en solution sulfurique N/100.

En employant des solutions tampons classiques (voir Priedeaux [72]), nous avons trouvé que le colloïde se forme dans des solutions dont le pH est compris entre 2,0 et 5,0, en milieu chlorhydrique, citrique ou acétique.

La réaction est visible jusqu'à une dilution en Al de $\frac{1}{2 \cdot 10^7}$ (en lumière diffuse).

Puis, nous avons entrepris l'étude quantitative de la réaction. La liqueur sur laquelle vont porter les mesures est une solution colloïdale, trouble, présentant le phénomène de Tyndall. Disons tout de suite que nous avons repoussé les mesures de l'intensité de la lumière diffuse, à cause de l'évolution rapide de ce colloïde. On sait que les variations de la grosseur des grains rendent illusoire toute relation numérique précise entre l'intensité de la lumière diffuse et la teneur en corps dosé (Chêneveau et Audubert [31], Boutaric [24]).

C'est la détermination de l'*opacité* du milieu trouble qui va servir au dosage de l'Al. Comment varie-t-elle en fonction des divers facteurs du dosage? C'est ce que nous avons cherché.

Pour cela, nous avons d'abord utilisé le spectrophotomètre de Féry [40]. Les indications données, que nous appellerons n , sont proportionnelles à la densité optique du milieu traversé, c'est-à-dire $\log. \frac{I_0}{I}$, I_0 étant l'intensité de la lumière incidente, et I celle de la lumière transmise. Une division vaut approximativement 0,06 en densité optique. Pour $I = I_0$, $n = 22,5$.

Nous versions dans des ballons de 50 cm³ la quantité désirée d'Al, sous forme d'une solution titrée d'alun ammoniacal. On ajoutait ensuite les réactifs dont on voulait étudier les effets, puis 1 cm³ d'une solution aqueuse fraîche de cupferron à 5 p. 100 (3 jours au maximum). Après avoir complété au trait avec de l'eau distillée, nous agitions le ballon par retournement trois ou quatre fois. Après le temps voulu, on versait le mélange dans une cuve de 7 cm. ou de 3 cm. 5 de longueur, et la mesure de l'opacité était faite dans le bleu, à plusieurs reprises, comme le recommandent Chêneveau et Audubert [31].

Tous les résultats suivants ont été obtenus dans ces conditions.

b) INFLUENCE DU pH ET DU TEMPS.

Avec 0 mgr. 04 d'Al on obtient, 10 minutes après l'addition de cupferron, une opacité mesurée par des nombres variant de $n = 46$ à $n = 24$ lorsque le pH passe de 2,0 à 5,0 en milieu acétique (acétate de Na + acide acétique) ou en milieu citrique (citrate de Na + HCl).

Dans les mêmes conditions, on trouve $n = 24$, en opérant dans un mélange de (HCl + KCl) de pH égal à 1,7 et $n = 47$, lorsque le milieu chlorhydrique est à pH 2,0 (voir Prideaux pour la composition des mélanges tampons [72]).

Le pH a donc une influence très sensible sur l'opacité mesurée après 10 minutes. Mais en prolongeant l'expérience, on constate que cette influence disparaît progressivement. Ainsi, toujours avec 0 mgr. 04 d'Al, on atteint une valeur de n égale à 47 au bout d'un temps variant de 12 à 25 minutes lorsque le pH passe de 2,0 à 4,6.

Ces résultats s'interprètent très bien à la faveur des études de Boutaric [23] sur la floculation des solutions colloïdales. Dans l'intervalle de pH de 2,0 à 4,6 le temps que met le milieu trouble à atteindre son maximum d'intensité croît de 12 à 25 minutes. Ce temps représente bien ce que Boutaric a appelé la durée de floculation du colloïde. Nous pouvons ajouter ici que, à l'approximation de nos mesures, la valeur même du maximum d'opacité ne change pas et dépend seulement de la quantité d'Al présente.

c) INFLUENCE DES PHOSPHATES.

Les considérations précédentes nous conduisent à ne plus mesurer que le maximum d'opacité qu'acquerra notre solution sous l'influence de divers ions. Ajoutons, à un mélange de (HCl + $\text{CH}^3 - \text{CO}^2\text{NH}^4$) de l'acide phosphorique en quantité variable, mais sans sortir des limites de pH fixées plus haut.

Nos résultats se résument dans ce tableau :

Al ajouté en mgr.	P ajouté en mgr. (sous forme de PO_4H^3)	n au maximum d'opacité (après 20 à 50 minutes)
0,03	0	41
0,03	3,4	41
0,03	6,8	42
0,03	34,0	44
0,40	0	55
0,40	34	55

On pouvait se placer en milieu citrique pour éviter la précipitation du PO_4Al . Ces expériences montrent que c'est inutile tant que la quantité de P reste inférieure à 34 mgr.

d) INFLUENCE DE QUELQUES CATIONS

(ceux qui ne précipitent pas le cupferron).

Les ions K^+ et Ca^{++} diminuent sensiblement la durée de floculation de notre colloïde. En solution décimorale de ces ions et avec 0,03 d'Al, cette durée est de 10 minutes avec K^+ et de 5 minutes avec Ca^{++} . Mais la valeur du maximum d'opacité n'est pas modifiée ($n = 40$).

e) INFLUENCE DE LA QUANTITÉ DE CUPFERRON

Avec 0 mgr. 04 d'Al, nous avons ajouté dans un cas 0 cm^3 10 de cupferron à 5 p. 100, et dans un autre cas 1 cm^3 , quantité utilisée dans toutes les mesures précédentes. L'opacité croît moins vite pendant les 5 premières minutes lorsqu'il y a moins de cupferron, mais en définitive, le maximum d'opacité a la même valeur ($n = 47$).

f) INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE

On doit opérer à froid (disons au-dessous de 50°) pour éviter décomposition du cupferron. La cuve, maintenue à la tem-

pérature voulue dans un bain d'eau, est sortie quelques secondes seulement pour l'observation. Avec 0 mgr. 03 d'Al, on obtient toujours $n = 40$ comme maximum d'opacité, que la température soit de 9°, de 18° ou de 28°.

g) INFLUENCE DE LA QUANTITÉ D'AL

De Brouckère et Belcke [33] avaient déjà indiqué que les solutions étudiées suivaient la loi des milieux troubles, c'est-à-dire que la densité optique était une fonction linéaire de la concentration en Al. Ils employaient avec succès le colorimètre de Duboscq pour leur dosage.

Nous avons retrouvé cette loi, en nous plaçant au maximum d'opacité. La courbe représentant n en fonction des concentrations en Al est une droite.

Voici le tableau de nos résultats :

Al en mgr. dans 50 cm ³	n correspondant	
	Cuve de 7 cm.	Cuve de 3 cm. 5
0,000	22,5	22,5
0,005	25	
0,010	28	25
0,020	34	28
0,040	47	34
0,050	55	37
0,060		40
0,080		47
0,100		55

Nous n'avons jamais employé la gélatine qui modifie beaucoup les conditions d'accroissement des grains (Boutaric [23]) et change la valeur du maximum d'opacité.

h) ESSAI D'ANALYSE DU PHÉNOMÈNE OBSERVÉ

Lorsque l'on étudie la précipitation d'un corps, il y a lieu, comme le fait remarquer très justement Jolibois [50], de dis-

tinguer deux facteurs, le pouvoir de germination spontanée et la vitesse d'accroissement linéaire des cristaux.

Ici, nous avons affaire à un colloïde, le premier facteur est prépondérant; mais le second, qui correspond au grossissement des grains, n'est pas nul. En mesurant l'opacité de la solution, on n'observe que leur résultante à l'instant t . On peut cependant séparer dans leur durée ces deux facteurs par l'expérience simple suivante :

Si l'on agite la solution trouble avec du chloroforme, on peut entraîner tout le précipité dans ce solvant. Si l'on fait cette opération 10 minutes après l'addition du cupferron, on constate que la liqueur aqueuse surnageant reste limpide même après une nouvelle addition de réactif. C'est donc qu'après 10 minutes tous les germes étaient formés. La présence de phosphates augmente un peu ce temps. En milieu acétique, il peut atteindre 20 minutes. Cela s'explique sans doute par la précipitation transitoire de PO_4Al qui est ensuite décomposé par le dérivé du cupferron bien moins soluble. Mais, même dans ce cas, le précipité complexe prend naissance pendant un temps relativement court, tandis que les grains maintenus en liqueur aqueuse continuent à grossir pendant plus longtemps (20 à 30 minutes comme le montrent les mesures de l'opacité) (1).

Ainsi la naissance du précipité et son grossissement sont deux phénomènes de durée séparément variable suivant les diverses conditions de la précipitation. Ils se composent pour donner à l'opacité une valeur croissante pendant un temps variable lui-même.

Au maximum d'opacité, ils ont cessé; le colloïde est au seuil de floculation; c'est à ce moment qu'il convient de faire la mesure.

(1) Dans ces recherches, on peut adopter la formule de Lord Rayleigh. Elle exprime que la densité optique du milieu traversé est proportionnelle au nombre de particules par unité de volume et au carré du volume d'une particule. Voir Boutaric (1931) [25].

CHAPITRE II

APPROXIMATION OBTENUE.

CONSTRUCTION D'UN ÉLECTROPHOTOMÈTRE A COIN. CONCLUSIONS PRATIQUES GÉNÉRALES

A. — *Position du problème.*

Ayant ainsi étudié les conditions d'un dosage opacimétrique, nous nous sommes demandé quelle précision on pourrait obtenir en améliorant la méthode de mesure.

Car, il faut bien le reconnaître, le spectrophotomètre de Féry ne permet pas de déterminer la densité optique à moins de 5 à 6 p. 100 près.

De plus, chaque mesure doit être répétée un assez grand nombre de fois (5 à 6) pour offrir une garantie de fidélité suffisante. Et dans l'étude que nous venons de faire où des séries de mesures se présentent, il y a là une cause importante de retard et de fatigue pour l'œil.

Pour toutes ces raisons, nous avons été tenté par l'emploi des cellules photoélectriques. Depuis peu de temps, elles sont entrées au laboratoire de chimie. Mais, comme nous le verrons, on ne les y a pas toujours utilisées dans les meilleures conditions. Pourtant les physiciens ont, pour des recherches de haute précision en photométrie, retiré grand profit de leur emploi. C'est à eux que nous nous référerons. Dans la discussion qui suit, nous ferons principalement appel à un mémoire de P. Fleury [42]. Nous n'envisagerons ici que les solutions proposées pour la colorimétrie pratique au laboratoire de chimie.

B. — *Emploi d'une seule cellule photoélectrique.*

On envoie sur la cathode d'une cellule un flux lumineux qui produit un effet photoélectrique mesuré par un courant i_0 (amplifié ou non). L'interposition sur le trajet du faisceau d'une cuve contenant la solution trouble ou colorée, de concentration c , ne produit plus qu'un courant i .

La détermination de $\frac{i_0}{i} = f(c)$ résout le problème posé.

Avec une cellule photo-émissive, $\frac{i_0}{i}$ est égal au rapport des intensités lumineuses $\frac{I_0}{I}$ à quelques millièmes près. Aussi a-t-on en général la relation simple :

$$\log \frac{i_0}{i} = ac + b \quad (a \text{ et } b \text{ étant deux constantes}).$$

Mais, avec une telle cellule il faut amplifier le courant photo-électrique ; ce qui augmente les risques d'instabilité. Cependant, la difficulté la plus grande reste dans tous les cas la réalisation pratique d'une source lumineuse d'intensité constante pendant la durée de la mesure. Il a fallu à Fleury [43] des accumulateurs de 180 ampères-heure pour alimenter dans de bonnes conditions la lampe à ruban de Tungstène de son « électrophotomètre de précision ». On sait que, d'autre part, une variation de tension de 1 p. 100 aux bornes d'une lampe à filament de carbone produit une variation de l'intensité lumineuse de 5 p. 100. Et les écarts de tension du secteur sont plus importants. Canals et Hortalà [28], essayant le photolorimètre de Toussaint, durent utiliser une batterie de 90 ampères-heure sans pouvoir dépasser la précision de 5 p. 100.

**C. — *Emploi de deux cellules en opposition
avec une des surfaces d'éclairement variable.***

Pour se mettre plus commodément à l'abri de l'instabilité du secteur, plusieurs auteurs ont décrit et utilisé un appareil à deux cellules montées en opposition dont voici le principe (Voir Lesure, Thomas et Lavagne [60] et Sevaux [80]).

La même source lumineuse éclaire les deux cellules (cellules à gaz, au potassium); la surface d'éclairement de la première cellule est constante, celle de la seconde est variable et mesurée par le déplacement d'un diaphragme d'ouverture triangulaire. Au zéro de la graduation, cette surface est minima.

On porte aux bornes des cellules une différence de potentiel de 90 volts. Les courants résultant de l'effet photoélectrique s'opposent et sont amplifiés par lampe triode. Leur différence est mesurée par un milliampèremètre à 0 central.

Un montage potentiométrique permet d'annuler cette différence.

On place ensuite devant la seconde cellule une cuve contenant le liquide étudié, de concentration c . Puis, en déplaçant le diaphragme jusqu'à la division n , on compense l'absorption lumineuse par l'augmentation de la surface d'éclairement et on ramène au 0 l'aiguille du milliampèremètre.

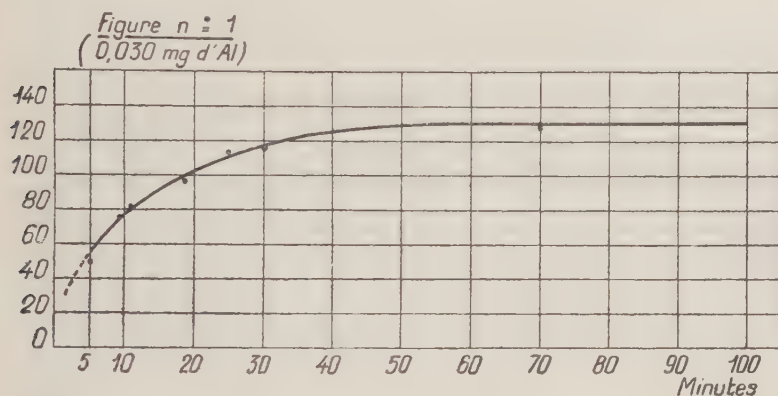
On peut tracer la courbe $n = f(c)$.

Nous avons utilisé cet appareil pour préciser l'évolution du colloïde étudié en fonction du temps. Sa grande sensibilité (on peut apprécier une différence de densité optique de 0,002) nous l'a permis. Nous avons obtenu des courbes asymptotiques très régulières; en voici un exemple (Figure n° 1).

Malheureusement, la fidélité de cet appareil est très mal assurée (Remarquons que Sevaux [80] fait pour chaque série d'expériences la détermination de $n = f(c)$).

Cette infidélité tient d'abord à ce que la cathode de la cellule

n'est pas uniformément éclairée ; la fonction $n = f(c)$ dépend évidemment de la distribution des intensités lumineuses sur la surface d'éclairement. Et comme la source lumineuse primitivement employée était une lampe de 12 volts à spirale de tungstène, les indications numériques fournies dépendaient de l'orientation de cette spirale, c'est-à-dire de la position de la lampe.



Mais, même en utilisant une plage de brillance uniforme, obtenue par exemple avec une lampe à ruban de tungstène (Fleury [43]), on ne peut assurer la fidélité de l'appareil. C'est que la sensibilité de la cellule varie souvent beaucoup d'un point à un autre de la cathode, (Fleury [42]), et alors, cette fois, la fonction $n = f(c)$ dépend encore de la position de la 2^e cellule. Elle peut enfin dépendre de l'âge de celle-ci.

En résumé, disons que l'appareil précédent peut rendre des services, par la grande sensibilité qu'il présente ; mais à cause de son montage électrique compliqué, de ses défauts de fidélité, il n'est pas l'instrument commode et sûr que nous cherchions.

D. — *Construction d'un « électrophotomètre »
à coin avec cellules à couches d'arrêt.*

L'emploi des cellules dites à couche d'arrêt est d'une simplicité avantageuse : elles ne nécessitent pas de différence de potentiel auxiliaire pour débiter des courants mesurables.

Mais, si l'on veut retirer de leur emploi plus de précision et de fidélité que des mesures visuelles, il faut observer des précautions spéciales.

En conservant le montage en opposition qui dispense d'une source d'intensité rigoureusement constante, et en maintenant égales pendant la durée de la mesure l'intensité et la surface du flux lumineux reçu par chaque cellule, nous avons obtenu satisfaction.

Description : Le système optique se compose de :

Une source lumineuse, A (lampe de 12 volts, 30 bougies, alimentée par le secteur);

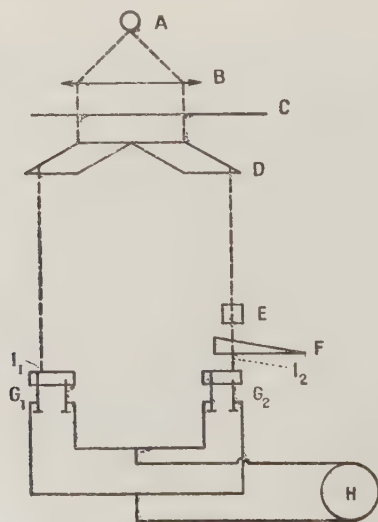


Fig. 2.

Une lentille, B, qui forme l'image du filament de A loin derrière le plan des cellules G_1 et G_2 ;

Un écran monochromatique, C ;

Deux prismes jumelés à double réflexion totale, D, qui produisent deux faisceaux lumineux ;

Une cuve absorbante, E, de densité d , placée sur le trajet de l'un des faisceaux ;

Un coin gradué, F, placé sur le même faisceau. A la division 0, la densité optique du coin est de 0,5 ; à la dernière division elle est de 0,1. Ce coin très étalé (il mesure 15 cm.) a pu être obtenu par photographie (1).

Les circuits comprennent :

1° deux cellules photoélectriques à couche d'arrêt (2) G_1 et G_2 recevant respectivement les faisceaux d'intensité I_1 et I_2 par deux fenêtres de 1 cm² environ chacune. Elles sont montées en opposition.

2° un galvanomètre à cadre mobile, de 200 ohms, H, permettant de déceler la différence des courants débités par les cellules, à partir de 0,01 microampère.

Mode d'emploi : La mesure consiste à maintenir I_2 constant, et pour cela à annuler le courant résultant des deux façons suivantes :

1° sans cuve et le coin étant à 0, en agissant convenablement sur le système optique (déplacement de B et D) ;

2° avec la cuve absorbante par déplacement du coin jusqu'à la division n , sans modifier autrement le système optique.

La densité cherchée d est donnée par le point d'abscisse n sur la courbe d'étalonnage du coin. On a toujours, si d_o et d_n sont les densités du coin à 0 et à n , $d_o = d + d_n$. D'où l'on tire $d = d_o - d_n$.

(1) Grâce à l'habileté de M. Jeantet, photographe de l'Institut Pasteur. Nous sommes heureux de lui adresser ici tous nos remerciements.

(2) Nous avons utilisé des couples photoélectriques de Se-métal de type récent (Bernheim, 1935).

Approximation obtenue. — On peut représenter le courant i , débité par la cellule G_1 , sous l'effet d'une intensité lumineuse moyenne I , la surface d'éclairement étant constante, par une expression telle que $i_1 = KI_1[1 - f(I_1)]$.

De même, pour la seconde cellule, on écrira :

$$i_2 = KI_2[1 - \varphi(I_2)] ;$$

$f(I)$ et $\varphi(I)$ sont des fonctions faiblement croissantes, nulles à l'origine. La fidélité de notre appareil repose sur le fait que la relation :

$$KI_1[1 - f(I_1)] = KI_2[1 - \varphi(I_2)],$$

se conserve pendant la durée de la mesure.

Cela tient, d'une part, à ce que les cellules débitant extrêmement peu ne se « fatiguent » pas et, d'autre part, à ce que les variations de voltage du secteur qui changent I_1 et I_2 dans le même rapport ne modifient pas sensiblement la valeur de $f(I_1)$ et $\varphi(I_2)$. Si l'on change les intensités lumineuses dans le rapport 1 à 1,5, la relation précédente est encore exacte. Or, les variations dues au secteur n'atteignent jamais cette amplitude.

Mais, pour des écarts plus importants des intensités, la fidélité n'est plus assurée à 1 p. 100 près.

Avec notre appareil, la reproductibilité des mesures est de 0,5 p. 100. Quant à la précision obtenue sur d , elle dépend de celle avec laquelle on a étalonné le coin.

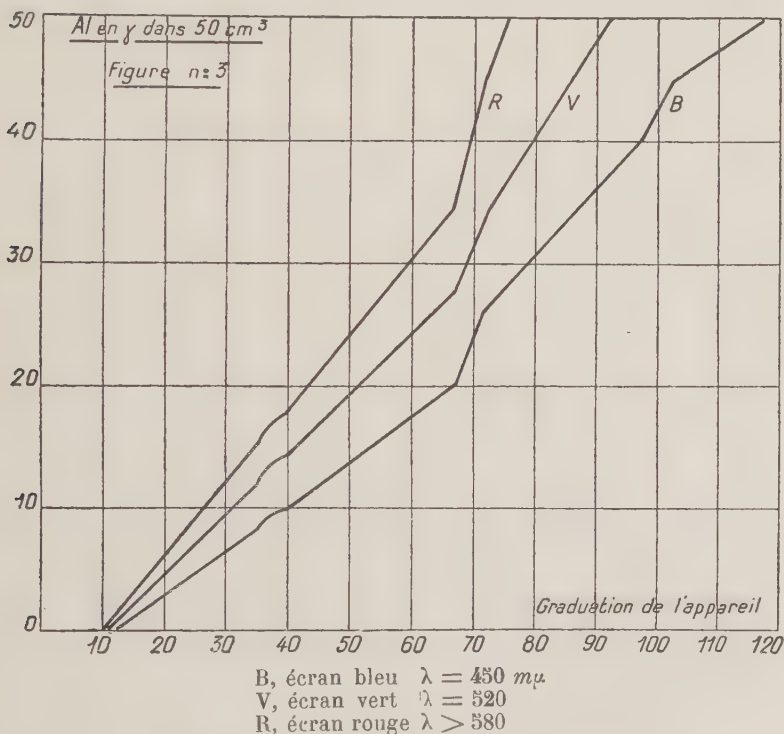
On peut évidemment l'étalonner directement en fonction de la concentration c du liquide absorbant, et construire la courbe $n = f(c)$. Avec un coin photographique, cet étalonnage doit être très serré.

Nous pourrions maintenant reprendre le dosage de l'Al aux grandes dilutions au moyen du cupferron, et préciser l'approximation obtenue dans une telle analyse.

E. — *Application au dosage de l'Al.*

Pour étudier la précipitation de l'Al, par le cupferron, nous avons d'abord disposé notre appareil verticalement. De cette façon, on évite l'effet de la chute des particules, qui disparaissent du champ lumineux, lorsque les rayons sont horizontaux.

Mais, dans le cas étudié, l'observation en lumière verticale ne s'imposait pas (1). Si l'on n'agit pas la cuve, le maximum d'opacité conserve une valeur constante pendant 2 à 3 heures lorsque la quantité d'Al contenue dans les 50 cm³ ne dépasse pas 0 mgr. 06.



(1) Mais cette précaution doit être retenue pour d'autres dosages opacimétriques.

Voici la courbe d'étalonnage de notre coin en fonction de la concentration en Al pour trois écrans, avec une cuve de 10 mm.

Et nous avons pu préciser les points suivants :

1° Si la solution d'Al contient seulement l'acide chlorhydrique et l'acétate d'Am en quantité voulue : HCl, 0 cm³ 5 ; CH³ — CO²Am à 20 p. 100, 3 cm³, dans 50 cm³, on peut déterminer la concentration en Al à 0,5 p. 100 près (1). C'est la précision des meilleurs dosages volumétriques.

2° Lorsque divers autres ions sont présents et qu'il y a moins de 30 mgr. de P, 20 mgr de Ca, 20 mgr. de K, dans 50 cm³ de solution, on peut déterminer la quantité d'Al présente (entre 0 mgr. 010 et 0 mgr. 20) avec une erreur relative de 3 à 1 p. 100.

F. — *Conclusions pratiques générales.*

L'étude précédente entraîne quelques conclusions, qui présentent un caractère de généralité pratique, que nous désirons mettre en lumière.

Il est possible d'effectuer avec une bonne précision le dosage d'un précipité en suspension. Mais, pour avoir des chances de réussite, il faut s'adresser à des corps dont la vitesse de cristallisation soit négligeable devant le pouvoir de germination.

Si ces deux facteurs sont tous deux appréciables, on obtient des particules qui, suivant leur âge, ont des grosseurs différentes. L'opacimétrie est vaine.

Reprenant un passage de la conférence de Jolibois [50], nous dirons : « Les précipités qui sont doués d'une vitesse de cristallisation faible restent petits et sont, à moins de trouver un

(1) Canals et Hortalà avaient déjà montré [28] que la concentration d'une suspension de mastic peut être déterminée à moins de 1 p. 100 par opacimétrie, mais en l'absence d'électrolytes étrangers.

coagulant convenable, inutilisables à des fins d'analyse gravimétrique... » ; nous ajouterons que ces corps sont peut-être susceptibles d'être dosés par opacimétrie.

Cette catégorie de corps étant bien définie, ce sont des colloïdes, il faut ensuite obéir aux lois de leur évolution.

Ces lois sont connues et conduisent aux règles suivantes :

1° Déterminer toujours le maximum d'opacité, valeur *limite*, correspondant au seuil de floculation du colloïde (Boutaric [23]) au lieu de se placer à un moment quelconque de son évolution.

2° Rechercher les limites des concentrations en électrolytes étrangers au-dessous desquelles le maximum d'opacité n'est fonction que de la teneur en corps dosé. L'étude précédente montre que ces limites existent (1).

(1) Nous avons d'ailleurs pu appliquer ces règles avec succès pour le dosage du Cr par le cupferron aux grandes dilutions. On a affaire à un colloïde analogue au dérivé de l'Al, mais dont le pouvoir de germination est beaucoup plus faible. Le maximum d'opacité n'est atteint qu'au bout de 4 heures dans les mêmes conditions.

CHAPITRE III

ÉLIMINATION DU Fe, Cu, Ti...

Puisque nous avons en vue le dosage de l'Al par le cupferron, nous avons cherché à éliminer les autres métaux à l'aide de ce même réactif dans les conditions où l'aluminium ne précipite pas.

Depuis longtemps, on a signalé et étudié la séparation du Fer et de l'Al, du Cu de l'Al, du Ti de l'Al au moyen du cupferron. En 1920, Lundelle et Knowles ont fait une étude systématique de ces séparations [64]. En 1927, Pinkus et Martin [71] ont déterminé la solubilité des dérivés métalliques du cupferron dans divers acides.

De ces travaux, on peut conclure que la précipitation des différents métaux par ce réactif est liée au pH de la solution. C'est ce que nous pouvons préciser dans ce tableau qui résume nos expériences :

Le cupferron précipite seulement les éléments suivants	
à un pH inférieur à 4,8	à un pH compris entre 2,0 et 5,0
Fe (ferrique)	Al
Cu	Cr
Ti	
Mo	
Sn	
Va	

Aucun des autres éléments déjà signalés dans la matière vivante ne précipite par le cupferron à un pH inférieur à 7.

En maintenant le pH de la solution au-dessus de 1,8, en opérant en solution normale de HCl par exemple, on précipite seulement les métaux de la colonne de gauche, même en présence de phosphates.

Mais quel est le mode d'élimination le plus commode ? La séparation par *filtration* et *lavage*, la seule décrite dans la littérature, présente de sérieux inconvénients pour notre dosage ultérieur de l'Al. Les précipités organo-métalliques sont très difficiles à laver, car ils se coagulent mal ; il en est de même de la nitrosophénylhydroxylamine qui précipite lorsqu'il y a un excès de cupferron en milieu acide ; les filtrats laborieusement obtenus sont très dilués : ce qui diminue la précision du dosage opacimétrique.

On obtient de meilleurs résultats en utilisant la propriété connue que présentent ces sels complexes d'être solubles dans les solvants organiques.

Après divers essais, nous avons choisi le chloroforme de préférence au tétrachlorure de carbone, au benzène et à l'éther. Le premier entraîne très rapidement après agitation tout le fer et le cuivre d'une solution chlorhydrique à 10 p. 100 traitée par un excès de cupferron. La liqueur surnageante limpide ne donne plus aucune réaction avec le sulfocyanate ni avec le ferrocyanure.

Le même succès est obtenu avec le titane, le molybdène et le vanadium.

Dans la solution privée des métaux précédents et amenée à pH 2,0 à 5,0, seuls l'Al et le Cr pourraient encore précipiter par le cupferron.

Ce mode d'élimination est d'exécution très aisée. Il pourrait sans doute être généralisé avec le développement de l'emploi des réactifs organiques en chimie analytique. En variant les conditions de la précipitation (acidité du milieu, corps étrangers, etc.), le chimiste crée à son gré de nouveaux groupes analytiques. Il peut en trouver qui réponde au problème parti-

culier qu'il s'est posé. Ces complexes organo métalliques étant le plus souvent entraînables dans les solvants organiques, la simplicité et la rapidité de l'analyse pourraient en être augmentées.

D'ailleurs, divers auteurs, comme Fischer avec la dithi-zone [41], ont utilisé ce mode de séparation.

Mais son application doit être discutée dans chaque cas : Nous avons vu que l'entraînement du sulfocyanate ferrique dans l'éther (Underhill et Petermann [86]) était un procédé inconstant d'élimination du fer (influence de PO_4H^3 et de l'acidité du milieu). Comme tout procédé analytique, l'entraînement des précipités dans un solvant est quelquefois en défaut et comporte des causes d'erreur. Il faut savoir les estimer.

CHAPITRE IV

DOSAGE DE L'Al DANS LES TISSUS VÉGÉTAUX ESSAIS D'APPLICATION DIRECTE AUX TISSUS ANIMAUX

Guidé par les travaux récents de G. Bertrand et Mme Lévy [16 et 61] nous avons appliqué les recherches précédentes au dosage de l'Al dans de petits échantillons de tissus végétaux.

Décrivons rapidement la méthode qui nous a donné satisfaction.

Matériel nécessaire.

Capsules de platine ou de quartz pour les incinérations.

Ampoules à décantation de 50 cm³.

Ballons jaugés de 50 cm³, 100 cm³ et 200 cm³.

L'appareil pour mesurer l'opacité du milieu trouble peut être le spectrophotomètre de Féry, ou mieux l'électrophotomètre à coin, plus précis.

Produits nécessaires.

Eau distillée sous pression réduite.

Acide chlorhydrique distillé au laboratoire environ 7 à 8 fois normal.

Acétate d'ammonium en solution aqueuse à 20 p. 100. On vérifie l'absence d'Al dans ce corps en le calcinant dans une

capsule de platine et en cherchant l'Al par la méthode précédente dans le résidu.

Chloroforme redistillé au laboratoire dans des appareils en verre à colonne rectificatrice (1).

Cupferron en solution fraîche à 5 p. 100 dans l'eau bidistillée.

Technique.

Les cendres provenant de 0 gr. 50 à 1 gr. de tissu végétal sec sont dissoutes dans 10 cm³ environ de HCl 0,7 N. La solution filtrée est traitée dans l'ampoule à décantation par la solution de cupferron ajoutée goutte à goutte jusqu'à obtention d'un précipité blanc surnageant (2). On dissout les précipités par agitation avec du chloroforme (10 cm³ en 2 fois). Après repos, celui-ci est soutiré. La solution aqueuse limpide est transvasée dans un ballon jaugé de 50 cm³. On y joint les eaux de lavage de l'ampoule, puis 5 cm³ de la solution d'acétate d'ammoniaque et 0 cm³ 5 de la solution de cupferron. Après avoir complété au trait avec de l'eau distillée, on agite le ballon pendant quelques secondes. Si un trouble apparaît dans la première minute qui suit, c'est qu'il y a de l'aluminium (3).

Après 20, puis 30 minutes, l'opacité du mélange est mesurée. Les deux valeurs ne doivent pas sensiblement différer. Avec l'électrophotomètre, on peut, en opérant dans la cuve de 10 mm., tomber en dehors des limites de l'appareil. Il suffit alors d'étendre à 100 cm³ ou même à 250 cm³ le contenu du

(1) Dans tous les échantillons de chloroforme commercial que nous avons analysés, nous avons trouvé de l'Al à une concentration voisine de 1 mgr. par litre.

(2) Ce précipité est de la nitrosophénylhydroxylamine formée par action de HCl sur l'excès de cupferron. Elle sera ensuite dissoute par CHCl₃.

(3) Le chrome donne une réaction analogue, mais deux fois moins sensible et beaucoup plus lente à se manifester (3 heures). D'autre part, son spectre est différent de celui qui fournit le dérivé d'Al.

ballon de 50 cm³ avant de faire la mesure. Cette dilution ne diminue pas la précision des mesures, comme nous l'avons vérifié.

De la mesure précédente et de la courbe d'étalonnage de l'appareil, il est facile de déduire la quantité d'Al de la prise d'essai. Si l'on opère avec les 3 couleurs, on s'assure que l'on est bien en présence d'Al et non de Cr.

Vérification.

On a vérifié la technique précédente en l'appliquant d'abord à un mélange de sels en solution, puis à des solutions de cendres végétales. Nous ajoutons à nos prises d'essai des quantités variables d'Al. Voici la composition du mélange salin :

Il renferme par cm³ :

Fe 0 mgr. 45	} dans HCl 0,8 normal
Mg 0 mgr. 70	
Ca 0 mgr. 30	
Zn 0 mgr. 10	
Si 0 mgr. 20	
Ti 0 mgr. 003	
P 8 mgr.	
S 2 mgr. environ	

Nous avons ensuite utilisé une solution chlorhydrique de cendres de *fucus* et de cendres de trèfle sec (partie aérienne).

Tableau des expériences de vérification :

Produit analysé	Al ajouté en mgr.	Al trouvé en mgr.
5 cm ³ du mélange salin . . .	0	0,003 env. (1)
10 cm ³ du mélange salin . . .	0	0,008 (1)
5 cm ³ du mélange salin . . .	0,03	0,035
5 cm ³ du mélange salin . . .	0,05	0,055
5 cm ³ du mélange salin . . .	0,10	0,105
5 cm ³ du mélange salin . . .	0,20	0,205
Cendres de <i>fucus</i> en solution. .	0	0,026
Cendres de <i>fucus</i> en solution. .	0,05	0,075
500 mgr. de trèfle sec	0	0,048
500 mgr. de trèfle sec	0,03	0,080
500 mgr. de trèfle sec	0,10	0,147

Il est donc possible de doser avec toute la précision annoncée de 0 mgr. 01 à 0 mgr. 20 d'Al dans des tissus végétaux.

Résultats obtenus.

Les plantes analysées ont été nettoyées avec le plus grand soin de manière à débarrasser leur surface de toute poussière argileuse.

Cette opération longue et laborieuse est facilitée ici par la petitesse de nos prises d'essais.

Nous nous sommes d'abord adressé à des plantes dont la teneur en Al avait été déterminée par M. G. Bertrand et Mme Lévy, par analyse pondérale.

Dans le tableau suivant, nous avons fait figurer dans la colonne de droite les résultats de ces auteurs.

Puis, nous avons choisi des algues marines à thalle lisse, faciles à nettoyer. Leur teneur en Al est indiquée au bas du tableau.

(1) Cette petite quantité d'Al provient d'impuretés de sels employés et aussi de l'attaque du verre du récipient. Nous avons trouvé qu'un litre de HCl 0,8 normal, conservé dans un flacon de verre ordinaire pendant 7 mois, s'empare de 2 mgr. d'Al.

	Aluminium trouvé en mgr. par kgr. de matière sèche	
	par la méthode opacimétrique	par voie pondérale
Verveine, feuille.	104	non déterminé
Menthe, feuille	160	328
Platane, feuille	56	60
Laitue, feuille verte	110	260
Laitue, feuille étiolée	18	103
Epinards, feuille	102	104 et 91
Betterave, feuille	72	non déterminé
Betterave, racine	28	6,6
Colza, racine.	32	de 94 à 140
Soja, graine	7,5	2,9
Avoine, graine	15	5,2
Banane, pulpe		

ALGUES MARINES

<i>Cauterpa prolifera</i>	46
<i>Laminaria flexicaulis</i>	58
<i>Fucus vesiculosus</i> , thalle	98
<i>Fucus vesiculosus</i> , vésicules	52
<i>Fucus platycarpus</i>	40
<i>Ascophytine nodosum</i>	62

Ces résultats confirment en l'étendant la conclusion de M. G. Bertrand et de Mme Lévy : l'aluminium est bien un élément normal des végétaux.

Application aux tissus animaux.

Encouragé par les résultats précédents, tenté par la simplicité de la méthode, nous avons essayé de l'appliquer à des organes animaux.

Mais ces essais, sur divers tissus très différents (muscle de bœuf, de poisson, foie de porc, etc...) ne tardèrent pas à nous montrer que cette tentative était infructueuse en général.

Cette constatation présente cependant déjà de l'intérêt. Pour réussir un dosage, il faut que la quantité de P soit inférieure

à 30 mgr. et celle de Ca à 20 mgr. Or, la teneur moyenne des tissus animaux secs en P est de 1 à 2 p. 100. On ne peut donc prendre plus de 1 gr. de tissu sec par essai. D'autre part, pour identifier l'Al et le doser, il faut qu'il y en ait plus de 0 mgr. 005 et plus de 0 mgr. 01. Cela correspond à une teneur minima de 5 et 10 mgr. par kgr. de tissu sec.

La dernière partie de ce mémoire expliquera aisément nos échecs.

Ils nous apprennent que pour pouvoir appliquer aux animaux la méthode simple qui a réussi avec les plantes, il faut de toute évidence demander à une opération auxiliaire un premier isolement de l'aluminium.

CHAPITRE V

ISOLEMENT DES PHOSPHATES DE FER ET D'ALUMINIUM. COMPARAISON DE DIVERS PROCÉDÉS

La séparation simultanée du fer et de l'aluminium à l'état de phosphates en milieu acétique a été maintes fois utilisée en gravimétrie.

Des précautions particulières sont imposées ici par la petitesse des quantités d'Al sur lesquelles on opère (dixième de mgr.). Plusieurs techniques ont déjà été décrites dans ce but précis. Myers, Mull et Morrison [70], en particulier, en ont proposé une qui a été souvent reprise. Plus récemment, on a employé l'urotropine comme agent alcalinisant (Voir Ray et Chattopadhyya [75], Lehrman, Kabat et Weisberg [59]). Alten, Weiland et Loofmann ont utilisé ce réactif pour la séparation de 25 à 200 millièmes de mgr. d'Al [1] d'un mélange complexe.

Dans une série d'essais analogues, nous avons comparé la valeur de ces divers procédés, suivant les conditions de leur application.

L'Al a été dosé par opacimétrie dans le précipité des phosphates après sa redissolution dans HCl et élimination du fer par la méthode décrite au précédent chapitre.

Les expériences résumées par le tableau suivant montrent que la présence du fer est indispensable à la précipitation complète de 0 mgr. 10 d'Al à l'état de phosphate. C'est ce que Myers, Mull et Morrison avaient remarqué. Nous avons même pu substituer le titane au fer avec le même succès.

Al ajouté en mgr. (solution Alun d'ammoniaque)	Essais n° (1)	Conditions de la précipitation. Corps ajoutés	Température	Al trouvé en mgr. dans le filtrat (2) après centrifugation	Al trouvé en mgr. dans le précipité
0 mgr. 40 dans tous les cas	1	HCl 40 N. 0 cm ³ 5 PO ⁴ (Am) à 30 p. 100 0 cm ³ 5 NH ⁴ OH jusqu'à alcalinité puis CH ³ — CO ² H jus- qu'à acidité	A froid (45 minutes)	0 mgr. 670	0 mgr. 025
	2	Les mêmes + CINH ⁴ à 20 p. 100 10 cm ³	Id.	0 mgr. 050	0 mgr. 050
	3	Les mêmes + Cl ² Ca à 10 p. 100 0 cm ³ 5	Id.	0 mgr. 050	0 mgr. 040
	4	Les mêmes + 1 mgr. Fer (ferrique)	Id.	0 mgr. 045	0 mgr. 030
	5	Les précédents	Au bain-marie bouillant (10')	0 mgr. 005	non fait
	6	HCl 40 < N 0 cm ³ 5 PO ⁴ (NH ⁴) à 30 p. 100 0 cm ³ 5 Acétate de NH ⁴ à 20 p. 100 1 cm ³	Id.	0 mgr. 003 env.	0 mgr. 036
	7	Fe+++ 1 mgr. et NH ⁴ OH jusqu'à virage du rouge de méthyle.	Id.	0 mgr. 003 env.	0 mgr. 100
	8	Id. avec bleu bromophénol comme indicateur	Id.	0 mgr. 003	0 mgr. 096
	9	Id. en remplaçant HCl par SO ⁴ H ²	Id.	non fait	0 mgr. 095
	10	Les précédents en ajoutant Cl ² Ca à 40 p. 100 0 cm ³ 5 Les précédents en remplaçant l'acétate de NH ⁴ et NH ⁴ OH par une solution d'hexaméthylène- tétramine à 30 p. 100	Id.	0 mgr. 003	0 mgr. 097

(4) Essais nos 1 à 5, personnels.

Essai n° 6, d'après Myers, Mull et Morrison.

Essais nos 7 à 10, personnels.

(2) Obtenus à travers un filtre Berzélius 0-0.

Mais en présence de Ca (cas général) l'indicateur employé par les auteurs américains n'est pas recommandable : la zone de virage du rouge de méthyle est pH 4,2 à 6,3 ; si l'on s'approche de pH 6, une partie du Ca précipite pendant le séjour au bain-marie. En utilisant le bleu de bromophénol, dont le virage s'échelonne de pH 3,0 à 4,5 environ, cet inconvénient est évité.

Dans le dernier essai, n° 10, nous avons constaté que l'hexaméthylènetétramine produisait un précipité plus volumineux, plus aisé à recueillir que celui que fournit l'ammoniaque.

Aussi, avons-nous songé à adopter cet agent alcalin.

Mais, en continuant nos recherches, nous constatons bientôt que, après élimination du fer par notre procédé, au moment de doser l'Al, nous nous trouvons fréquemment en présence d'un louche jaunâtre, qui ne présente pas la même absorption que l'Al (avec les trois écrans colorés de notre appareil).

Nous avons observé un phénomène analogue quelquefois dans nos dosages sur les tissus végétaux.

En rapprochant ces faits, nous avons bientôt reconnu que ce qui troublait nos dosages était dans tous les cas un peu de fer non éliminé dans le traitement précédent.

Le procédé d'élimination si commode, décrit au chapitre IV, pouvait-il donc être en défaut ? Et dans quel cas ?

L'expérience nous a permis d'y répondre :

Lorsqu'il y a un peu de fer ferreux, sa précipitation par le cupferron est très lente en milieu acide, et ne devient complète que lorsque le pH est relevé aux environs de 3.

En traitant la solution acide par un petit excès de MnO_4K avant l'addition de cupferron, on n'obtient jamais de louche jaunâtre dû aux traces de fer non éliminé. Cette précaution est sûre mais difficilement applicable dans un dosage opacimétrique.

Pour l'urotropine, l'explication est évidente. Elle agit comme alcalin, mais aussi comme réducteur par le formol libéré en

même temps que l'ammoniac; le sel ferreux produit est entraîné par le précipité de phosphates.

Aussi, avons-nous abandonné ce réactif pour suivre la technique de Myers, Mull et Morrison en changeant seulement l'indicateur de virage (bleu de bromophénol).

Mais la calcination peut aussi laisser parfois un peu de sel ferreux dans les cendres. Cette constatation n'est d'ailleurs pas nouvelle.

Alors, une question se pose :

Comment doit-on opérer la destruction des matières organiques pour réussir le dosage de l'Al par le cupferron? Nous y répondrons maintenant.

CHAPITRE VI

DESTRUCTION DES MATIÈRES ORGANIQUES

Depuis quelques années, la destruction de la matière organique par voie humide se répand dans les laboratoires de biochimie et de toxicologie.

C'est surtout lorsqu'il s'agit de tissus animaux que ce mode de minéralisation présente des avantages : on évite la longue durée des incinérations et surtout la difficile dissolution des cendres animales (1).

Pour doser l'Al on a déjà recouru à la voie humide dans des conditions variées.

Steel [82] détruisait le sang de ses essais par un mélange sulfonitrique. Schmidt et Hoagland [79] employaient SO^4H^2 et soumettaient le résidu à une fusion alcaline.

Myers, Mull et Morrison, pour détruire à chaque essai 50 gr. ou plus de tissu frais, les faisaient digérer dans un mélange de SO^4H^2 et de ClO^4H (Ce dernier agit plus efficacement sur les lipides). Le produit de cette digestion réduit à 5 cm³ environ était facilement dissous dans HCl.

Mais il fallait relativement d'assez grandes quantités d'acides pour obtenir la destruction complète. Myers, Mull et Morrison n'ont pas donné d'essai témoin *sans Al* avec les quantités d'acide

(1) Ce sont surtout les méta et pyrophosphates, corps vitreux, qui se forment pendant la calcination, qui recouvrent les dernières traces de matière organique et s'opposent à leur combustion.

nécessaires. Plus tard, Cox, Schwartz, Hahn et Unangst [32] abandonnèrent ce mode de destruction à cause de la difficulté de purification des acides perchlorique et sulfurique.

Mais, récemment, en associant les acides nitrique et perchlorique ou nitrique, perchlorique et sulfurique, Kahane a pu gagner du temps et réduire beaucoup les quantités nécessaires dans les destructions par voie humide [51].

Nous avons essayé ce mode de minéralisation. Nous avons cherché, d'une part, à chiffrer l'importance des pertes en Al au cours de l'attaque, et, d'autre part, à priver les acides de toute trace de ce métal.

Tout d'abord, nous avons écarté la destruction par les acides nitrique et perchlorique seuls. On sait qu'elle présente des risques d'explosion et nous savons maintenant qu'il nous faut opérer sur au moins 5 mgr. de matière sèche dans le cas général. Sans être très dangereuse pour l'opérateur, cette attaque peut déterminer des entraînements vésiculaires importants. D'autre part, on sait que le chlorure d'Al susceptible de se former est assez volatil (L'attaque perchlorique commence à 200°).

Pour ces raisons, nous avons essayé l'attaque nitrosulfopercchlorique seule. La solubilité du sulfate d'Al dans SO^+H^2 est très suffisante. Elle passe par un minimum pour un acide vingt fois normal (voir Wirth [88], 1933) et atteint son maximum (29 p. 100) en solution normale. Par contre, la précipitation de SO^+Ca et de $(\text{SO}^+)^3\text{Fe}^2$ aux dépens des tissus riches en Ca et en Fe est inévitable.

Est-ce là un inconvénient sérieux pour la suite de ce dosage ? Seules des expériences permettent d'y répondre. Le tableau suivant les résume.

Les pertes d'Al ne dépassent pas 5 p. 100 ; elles restent donc de l'ordre de l'erreur commise dans la méthode opacimétrique. Si l'on veut retenir ce mode de destruction, la dernière condition est l'obtention d'acides *purs*.

Tissu détruit dans un matras de quartz	Al introduit en mgr.	Acides ajoutés pour la destruction (1)	Al retrouvé en mgr (2)	Divers
5 gr. de pancréas sec pulvérisé de bœuf.	0	$\left\{ \begin{array}{l} \text{SO}^4\text{H}^2 \text{ } d = 1,81 \\ \text{NO}^3\text{H} \text{ } d = 1,39 \\ \text{Mélange } n-p \end{array} \right.$ 5 cm³ 25 cm³ 8 cm³	0,120	
Echantillon identi- que	0,050	id.	0,168	
10 gr. de testicule de taureau	0	$\left\{ \begin{array}{l} \text{SO}^4\text{H}^2 \\ \text{NO}^3\text{H} \\ \text{Mélange } n-p \end{array} \right.$ 5 cm³ 35 cm³ 12 cm³	0,080	
id.	0,100	id.	0,180	
50 gr. de muscle et arêtes de maque- reau	0	$\left\{ \begin{array}{l} \text{SO}^4\text{H}^2 \\ \text{NO}^3\text{H} \\ \text{Mélange } n-p \end{array} \right.$ 5 cm³ 25 cm³ 7 cm³	0,065	abondant précipité de SO ⁴ Ca
id.	0,100	id.	0,160	

(1) Le mélange *n-p*, nitro-perchlorique est fait, suivant les indications de Kahane (54), de 1 volume de NO³H de $d = 1,39$ et de 2 volumes de ClO⁴H de $d = 1,61$.

(2) Pour doser l'Al on a d'abord précipité les phosphates de Fer et d'Al, puis on a appliqué au mélange de phosphates la méthode décrite pour les Plantes au chapitre IV.

Ce n'était pas le cas dans les expériences précédentes. En faisant un essai témoin (sans tissu animal) avec 10 cm³ de SO⁴H², 50 cm³ de NO³H et 15 cm³ du mélange nitroperchlorique (acides dits « purs » du commerce), nous avons trouvé 0 mgr. 010 d'Al.

Nous avons décidé alors de purifier nous-mêmes nos acides au laboratoire. L'acide nitrique a été distillé sous la pression normale dans une cornue de Pyrex.

L'acide sulfurique a été distillé sous pression réduite dans un appareil de Pyrex. L'acide perchlorique a été purifié comme l'acide sulfurique après addition de 1/5 de ce dernier acide (1).

Les acides distillés une fois et en mêmes quantités que plus

(1) Nous sommes heureux d'exprimer ici notre gratitude à M. le professeur Fabre, qui nous a généreusement ouvert son Laboratoire à la Faculté de Pharmacie, et à M. E. Kahane, qui nous y a si bien reçu.

haut, ne laissent plus que 0 mgr. 007 d'Al. Après une seconde distillation, on trouve moins de 0 mgr. 003 d'Al dans les mêmes conditions.

Une troisième distillation n'a pas fourni de meilleur résultat. Il est probable qu'en opérant dans des appareils de quartz, nous aurions pu nous débarrasser de toute trace d'Al décelable par la réaction du cupferron (Limite $\frac{1}{2.10^7}$).

CHAPITRE VII

DESCRIPTION COMPLÈTE DE LA MÉTHODE ADOPTÉE

Nous indiquerons ici le matériel, les produits nécessaires et la technique à suivre pour identifier et doser l'Al dans les tissus animaux par la méthode fondée sur les recherches précédentes.

Matériel nécessaire.

Matras de quartz de 500 cm³ à large col pour l'introduction de fragments importants de tissus.

Appareil à entraîner, condenser et absorber les vapeurs provenant de la destruction des matières organiques (appareil analogue à celui décrit par Kahane [51]). Il permet en outre l'introduction d'acide dans le matras pendant l'attaque.

Tubes à centrifuger de 60 cm³ (en Pyrex).

Filtres Berzélius 00.

Ampoule à décantation de 50 cm³.

Ballons jaugés de 50, 100 et 200 cm³.

L'électrophotomètre à coin avec ses 3 écrans colorés.

Produits nécessaires.

Eau distillée sous pression réduite dans des appareils de verre.

Acide sulfurique de densité 1,81.

Acide nitrique fumant $d = 1,39$.

Mélange $\left\{ \begin{array}{l} \text{acide perchlorique, } d = 1,61. \quad . \quad . \quad 2 \text{ volumes} \\ \text{acide nitrique, } d = 1,39. \quad . \quad . \quad 1 \text{ volume.} \end{array} \right.$

Ces acides sont purifiés suivant la méthode décrite au chapitre VI.

Solution de sulfate ferrique, à 1 mgr. par centimètre cube, privée d'Al (Pour préparer cette solution, on dissout la quantité voulue de fer, à l'état d'alun ferrico-ammonique dans HCl à 10 p. 100 et on la précipite par le cupferron. Le précipité est extrait par le chloroforme et calciné dans une capsule de platine. Le résidu est enfin dissous dans SO^4H^2 à 5 p. 100).

Solution de phosphate d'ammoniaque tribasique (sel recristallisé) à 30 p. 100.

Solution d'ammoniac redistillé au laboratoire (9 à 10 fois normale).

Solution de bleu de bromophénol à 1 p. 1.000 dans l'alcool à 90°.

Acide chlorhydrique 7 à 8 fois normal (redistillé au laboratoire).

Cupferron, solution fraîche à 5 p. 100.

Chloroforme redistillé au laboratoire.

Acétate d'ammoniaque, solution à 20 p. 100 du sel recristallisé.

Technique à sulvre.

a) DESTRUCTION DES MATIÈRES ORGANIQUES

Introduire dans le matras de quartz 5 à 10 gr. d'organe sec (1) et un petit fragment d'agitateur de quartz (2).

Ajouter 5 cm³ de SO^4H^2 et 25 cm³ de NO^3H .

Agiter, porter sous le col de l'appareil à destruction et chauffer avec précaution.

(1) Produit moins de mousse qu'un organe frais au cours de l'attaque.

(2) Ce corps très poreux est un excellent régulateur d'ébullition.

En général, une mousse abondante se forme, dont il faut suivre sans cesse les mouvements. Au bout de 10 à 15 minutes, elle a cessé. Chauffer plus fort jusqu'à ébullition tranquille.

D'abondantes vapeurs nitreuses se dégagent, puis la liqueur se concentre. En même temps sa couleur fonce progressivement. Lorsqu'elle est à peu près noire, et très visqueuse, verser quelques gouttes du mélange nitroperchlorique sans cesser le chauffage.

Si des vapeurs blanches, lourdes, apparaissent dans le col du matras, c'est que l'acide perchlorique se décompose. Dans ce cas, continuer l'addition du mélange (1 cm³ à la minute environ).

Sinon, attendre, sans cesser le chauffage, que cette décomposition s'effectue pour continuer l'attaque perchlorique.

Lorsque celle-ci se poursuit bien, l'ébullition est très régulière, et la liqueur, fluidifiée, se décolore progressivement.

Mais il peut arriver que la concentration soit trop rapide et que le liquide encore noir se dessèche. Dans ce cas, arrêter le chauffage et ajouter 5 à 10 cm³ de NO³H. Chauffer à nouveau et recommencer l'addition du mélange nitro-perchlorique, dans les mêmes conditions que précédemment.

A la fin, lorsque la liqueur est seulement très légèrement jaune-vert, ne plus ajouter d'acide et chauffer plus fortement pour éliminer l'excès de ClO⁴H.

Après refroidissement, la liqueur doit être incolore.

6) PRÉCIPITATION DES PHOSPHATES

Transvaser le résidu sulfurique dans un tube à centrifuger. Y joindre les eaux de lavage du matras (environ 40 cm³ employés en 6 à 7 fois).

Ajouter 1 cm³ de la solution de sulfate ferrique, 10 gouttes de PO⁴(NH⁴)³, puis 1 cm³ 5 d'acétate d'ammoniaque.

Puis en présence de 2 gouttes de colorant jaune, verser goutte à goutte l'ammoniaque jusqu'à virage au bleu (2 à 3 cm³).

Bien agiter et porter le tube au bain-marie bouillant jusqu'à ce que le précipité tombe en gros flocons (5 à 10 minutes).

Centrifuger et filtrer la liqueur. Laver le culot de centrifugation avec un peu d'eau acétique.

Centrifuger et filtrer à nouveau.

c) ELIMINATION DU FER

Dissoudre le précipité de phosphates dans 0 cm³ 5 de HCl.

Ajouter 2 à 4 cm³ d'eau et porter le tube au bain-marie pendant 5 minutes environ (1).

Filtrer à travers le filtre précédent au-dessus de l'ampoule à décantation.

Laver le tube et le filtre avec de l'eau distillée.

A la solution chlorhydrique refroidie, ajouter 0 cm³ 5 de cupferron et 2 cm³ de CHCl₃.

Agiter vigoureusement. Après repos, soutirer le solvant.

Recommencer le traitement par la même quantité de CHCl₃.

Vérifier, après repos, que dans la solution aqueuse une goutte de cupferron ne produit qu'un précipité blanc léger. Enlever ce dernier dans 0 cm³ 5 de CHCl₃.

A ce moment, tout le fer est éliminé.

d) DOSAGE DE L'ALUMINIUM

Faire passer la solution chlorhydrique dans un ballon jaugé de 50 cm³. Y joindre les eaux de lavage de l'ampoule, puis 5 cm³ de la solution d'acétate d'ammoniaque et 0 cm³ 5 de cupferron.

Compléter au trait avec de l'eau distillée.

Agiter le ballon.

(1) Les phosphates sont presque toujours mélangés d'un peu de SO₄Ca insoluble.

Un trouble apparaît s'il y a de l'Al.

Après 40 minutes, déterminer l'opacité du mélange dans une cuve de 10 mm. d'épaisseur et avec les trois écrans colorés.

Diluer le contenu du ballon dans 100 cm³ ou même 200 cm³ si c'était nécessaire.

Vérifier qu'après une heure l'opacité n'a pas une valeur plus élevée.

e) CONTRÔLE DU DOSAGE

Vérifier que les points figuratifs des trois mesures d'absorption sont situés sur une même ordonnée des trois courbes d'étalonnage.

TROISIÈME PARTIE

APPLICATIONS AUX TISSUS ANIMAUX

CHAPITRE PREMIER

LES HERBIVORES

Il est bien établi aujourd'hui que l'aluminium est un élément *normal* des végétaux. Son importance quantitative y est souvent supérieure à celle du fer. Sa répartition particulière dans les feuilles semble témoigner de son rôle physiologique (Voir G. Bertrand et Mme G. Lévy [16 et 61]).

Il paraît donc logique de rechercher si ce métal passe dans les tissus des animaux qui se nourrissent habituellement de plantes. Aussi notre premier matériel d'étude a-t-il été des organes d'herbivores.

Pour pouvoir étudier plus commodément la répartition du métal dans ceux-ci, nous nous sommes adressé à de gros animaux, comme le cheval, le bœuf, le porc... De cette façon nous avons au moins 100 gr. de chaque échantillon, et le plus souvent nous avons pu répéter les dosages.

L'extrême abondance de l'Al dans les poussières du sol, de terre, impose des précautions spéciales pour la récolte des

organes. Ils ont été prélevés immédiatement après l'abatage (1) et préservés de tout contact avec le sol. Au laboratoire, ils ont été soigneusement lavés à l'eau distillée. Les muqueuses du tube digestif ont été brossés avant ce lavage. Nous n'avons pas analysé de phanères (poils, sabots, ongles, etc.) pour lesquels tout lavage est incomplet.

Les organes retenus ont été séchés à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant.

A. — Cheval.

Notre méthode, appliquée à divers organes de deux chevaux, a donné les résultats suivants :

Organes analysés	Teneur en matière sèche 0/0	Prise d'essai	Al trouvé en mgr.		
			dans l'essai	par kgr. de	
				mat. s.	mat. f.
Muscle radial . . .	23,6	10 g m.s.	0,010	1,0	0,23
Muscle de la langue. .	23,7	5 g m.s.	0,008	1,6	0,38
Muqueuse linguale . .	20,0	5 g m.s.	0,040	8,0	1,60
Duodénum, muqueuse .	15,4	5 g m.s.	0,055	11,0	1,70
Rate	19,5	5 g m.s.	0,020	4,0	0,78
Rein	18,4	5 g m.s.	0,031	6,2	1,14
Pancréas	20,0	5 g m.s.	0,080	16,0	3,20
Foie	24,4	5 g m.s.	0,033	8,6	1,61
Poumon	8,9	5 g m.s.	0,037	7,4	0,66
Cervelle	19,1	5 g m.s.	0,028	5,6	1,07
Testicule	13,6	5 g m.s.	0,030	6,0	0,81
Cœur	21,2	5 g m.s.	0,037	7,4	1,57
Sang		25 cm ³	0,029		1,16
Thyroïde		5 g m.s.	0,054	10,8	
<i>Autre cheval :</i>					
Muqueuse de l'estomac.	12,7	20 g m.s.	0,033	1,65	0,21
Muscle de l'estomac .	15,8	20 g m.s.	0,015	0,75	0,12
Péritoine.	16,4	20 g m.s.	0,055	2,75	0,45
Pancréas		5 g m.s.	0,060	12,0	

(1) Nous tenons à remercier ici M. Blanchard, vétérinaire des Abattoirs Hippophagiques de Vaugirard, qui nous a très aimablement facilité nos prélèvements.

Ainsi, nous trouvons de l'Al dans tous les organes analysés. Mais les teneurs sont très variables, et d'une façon générale elles sont plus élevées qu'on ne pouvait le supposer (1). Le cas le plus inattendu est certainement celui du pancréas. Le chiffre de 16 mgr. par kilogramme de matière sèche est relativement très fort (moyenne de deux dosages concordants). Le pancréas du second cheval a fourni également un chiffre élevé : 12 mgr. Le poumon, qui a reçu les poussières de l'atmosphère, en particulier des particules siliceuses (G. Antoine) [5], est moins riche en Al (7 mgr.). Un autre fait remarquable est la distribution du métal entre la muqueuse de la langue et le muscle sous-jacent. Elle rappelle le fait découvert par M. G. Bertrand et Medigreceanu pour le Mn, 1912 [12] et retrouvé plus tard relativement à l'étain [17], au plomb [18] par G. Bertrand et Ciurea, et au zinc [19] par Battacharjee. Remarquons de plus que le même partage du métal, au profit de la muqueuse, se retrouve, à un degré moins net pour l'estomac. Enfin, la muqueuse duodénale s'est montrée très riche (11 mgr.), mais nous n'avons pu dans ce cas analyser le muscle sous-jacent. G. Bertrand et Medigreceanu [12] avaient déjà remarqué que l'estomac et l'intestin étaient parfois très riches aussi en métal (manganèse).

Voyons maintenant si la répartition de l'Al dans les organes d'espèces voisines va confirmer ou non ces faits curieux.

(1) D'après l'ensemble des résultats antérieurs (Voir Première partie).

B. — *Vache et taureau.*

Organes analysés	Teneur en matière sèche, 0/0	Prise d'essai	Al trouvé en mgr. par kgr. de		
			dans l'essai	mat. s.	mat. f.
Muscle lingual. . . .	33	5 gr. m. s.	0,006	4,2	0,40
Muqueuse linguale . .	28	id.	0,026	5,2	1,45
Muqueuse de la caillette.	20	id.	0,110	22	4,4
Muqueuse de l'intestin .	14	id.	0,150	30	4,2
Rein.	21	id.	0,035	7,0	1,46
Pancréas	22	id.	0,026	5,2	1,44
Poumon	20	id.	0,040	8,0	1,6
Foie.	26,8	id.	0,020	4,0	1,0
Cerveau	24	id.	0,015	3,0	0,72
Glande mammaire . .	23,9	id.	0,046	9,2	2,2
Cœur	23	id.	0,024	4,8	1,18
Muscle sous-épineux . .	25	id.	0,010	2,0	0,50
Glandes surrénales . .	21	id.	0,037	7,4	1,56
Lait.		50 cm ³	0		0
Testicule	14	5 gr. m. s.	0,035	7,0	0,98

Nous retrouvons ici la même répartition dans la langue. Mais les autres muqueuses du tube digestif sont encore plus riches en métal. L'absence d'Al dans le lait ou plus probablement sa très faible teneur est à rapprocher du cas de nombreux métaux [12]. Enfin, la richesse du pancréas n'a pu être retrouvée ici. Devant cette constatation, nous avons voulu comparer chez divers autres animaux la teneur du foie à celle du pancréas.

C. — *L'Al dans le pancréas
et le foie de divers animaux.*

Toutes les analyses ont été effectuées sur des prises d'essai de 5 gr. d'organe sec.

Al en mgr. par kgr. de	Cheval	Vache	Bœuf	Fœtus de veau (1)	Porc	Mouton
Foie frais. . . .	4,61	4,0	0,45	0,43	4,0	0,67
Foie sec	6,6	4,0	1,6	2,4	3,0	2,0
Pancréas frais . .	3,20	1,14	1,25	0,52	1,6	1,2
Pancréas sec . .	16	5,2	5,0	2,6	4,8	4,8
id. (autre animal) .	12					

La richesse du pancréas de cheval paraît vraiment exceptionnelle. Mais dans les autres animaux cet organe est toujours plus chargé d'Al que le foie. Ce fait rappelle les résultats de G. Bertrand et Machebœuf relativement au Ni et au Co [13]. On sait que cette constatation a mis ces auteurs sur la voie du rôle physiologique de Ni et Co [14].

Le tableau précédent appelle encore une remarque : les chiffres obtenus pour un même organe sont très voisins (cas du pancréas de cheval excepté) chez les différents animaux analysés, qui appartiennent à un même groupe zoologique. Ce fait évoque encore le cas de nombreux métaux dont le rôle physiologique est bien établi aujourd'hui, comme le Mn, le Cu, le Zn, etc...

D. — *Conclusions.*

De l'ensemble des résultats précédents on peut conclure que la présence de l'Al est générale dans les organes des herbivores. Ce n'est que dans le lait de vache que nous n'avons pu le rencontrer (2). Quelle est la voie d'entrée de ce métal dans l'organisme ? Peut-être une partie pénètre-t-elle par le poumon, comme cela a lieu pour la silice ? (G. Antoine [5]). La richesse

(1) De huit mois et demi.

(2) Dans le blanc de l'œuf de poule nous n'avons pas non plus trouvé d'Al. Dans le jaune, par contre, nous avons trouvé une fois 1 mgr. 6 et une autre 1 mgr. 8 par kgr. de matière sèche. Rappelons que cette répartition au profit du jaune est commune au Mn (G. Bertrand et Medigreceanu [12]) et à d'autres métaux.

de cet organe est moyenne (7 à 8 mgr. par kgr. de matière sèche). Par la voie digestive, l'apport d'Al est sans doute plus important. Mais comment interpréter la forte teneur des muqueuses du tube digestif? Représentent-elles la barrière qui s'oppose à l'absorption de l'Al par les organes internes? Kärber a trouvé qu'une anse intestinale isolée de chat, ne se laissait pas traverser par les sels d'Al (chlorure, sulfate ou tartrate [54]). Mais cet auteur a opéré avec de fortes doses de métal (plusieurs dizaines de mgr.). Et le passage de petites quantités d'Al aurait échappé à la méthode d'analyse employée (Pesée de $\text{PO} \cdot \text{Al}$). Les muqueuses du tube digestif sont-elles au contraire un organe d'élimination de l'Al? Cette hypothèse a été envisagée pour la muqueuse linguale relativement au Mn, à Sn, à Pb et à Zn, par G. Bertrand et ses collaborateurs.

Quoi qu'il en soit, on trouve de l'Al dans tous les viscères, même dans des organes de fœtus, et parfois le pancréas semble accumuler ce métal.

CHAPITRE II

ANIMAUX MARINS

On a rarement signalé la présence de l'Al dans les animaux marins. En 1874, Delachanal et Mermet [35], cités par Quinton [73], l'ont rencontré dans un calcul intestinal d'esturgeon. Schütze, rappelons-le, l'a trouvé en abondance dans le manteau d'une Ascidie [78]. Enfin, Winter et O. Bird, analysant divers aliments, ont trouvé 2 à 3 mgr. d'Al par kgr. de muscle frais de quelques poissons [87].

Les résultats fournis par les Algues (II^e partie, chapitre IV) montrent que les animaux marins doivent ingérer par cette voie un peu d'Al.

Avant d'analyser leurs tissus, nous déterminerons la teneur de l'eau de mer en Al. Cela nous dira si ces animaux effectuent, relativement au milieu extérieur, une concentration en métal dans leurs tissus, comme cela a lieu par exemple pour le zinc.

A. — *L'aluminium de l'eau de mer.*

Dans les tableaux de la composition minérale de ce milieu naturel, l'Al n'est en général, pas porté. (Par exemple dans Quinton [73], Legendre [56], Harvey [48]). On signale seulement que l'Al existe à l'état de traces dans l'eau de mer, et qu'il y est « aisément décelable » (Harvey [48]).

Si l'on applique à 50 cm³ d'eau de mer la méthode décrite au chapitre VII de la II^e partie, y compris la destruction des matières organiques, rien n'est plus aisé que d'identifier et de doser l'aluminium. Voici quelques-uns de nos résultats :

Provenance de l'échantillon analysé	Al en mgr. par litre d'eau de mer filtrée (1)
Royan (embouchure).	4,8
Guéthary (rochers)	0,6
Roscoff, baie	0,5
Roscoff, large	0,6

Ces résultats placent l'Al au rang du fluor, du phosphore, et de l'iode dans le tableau de la composition minérale de l'eau de mer.

B. — *L'aluminium dans quelques animaux marins.*

Les animaux que nous avons analysés proviennent presque tous de la station biologique de Roscoff. Nous tenons à exprimer ici notre respectueuse gratitude à M. le Professeur Pérez, membre de l'Institut, directeur de la Station, qui nous a autorisé à y travailler, et à M. Teissier, sous-directeur. Nous avons récolté nous-même notre matériel d'étude et sur place l'avons nettoyé et desséché. La sujétion dans cette sorte de prélèvement est d'éviter toute souillure par le sable, qui apporterait de l'Al en quantité importante. Cette préoccupation nécessaire nous a fait renoncer à l'analyse d'animaux tels que la Mye, ou le Buccin, gorgés de sable. Nous avons donné la préférence aux organes internes des gros poissons, aux muscles bien protégés des Crustacés, etc.

Voici les résultats obtenus par application de notre méthode d'analyse :

(1) A travers un filtre Berzélius 00.

Animal et Organes organisés	Teneur en matière sèche 0/0	Prise d'essai en m. s.	Al trouvé en mgr.		
			dans l'essai	par mat. s.	kgr de mat. f.
<i>Poissons :</i>					
Labre : Muscle	20	5 gr.	0,018	0,6	0,72
Id. : Foie	20	0 gr. 9	0,020	22,2	4,44
Roussette : Muscle	21,4	5 gr.	0,035	7	1,5
Roussette (petite espèce) :					
Muscle et arête	20	5 gr.	0,035	11	2,2
Foie (1).		5 gr.	0,124	24,8	
OEuf, vitellus	30	1 gr. 5	0,031	20,6	6,3
Roussette : Muscle	20	5 gr.	0,035	7	1,4
Roussette (grosse espèce) :					
Foie.		1 gr.	0,026	26,0	
Pancréas	18,0	5 gr.	0,024	4,8	0,86
Autre animal : Pancréas .	18,1	1 gr. 8	0,017	9,4	1,70
<i>Crustacés :</i>					
Homard : Muscle de l'abdomen	10,6	3 gr. 3	0,044	13,2	1,4
Maïa : Muscle des pattes .	23,7	5 gr. 0	0,040	8,0	1,9
Id. Id.	20,0	2 gr. 8	0,064	22,8	4,5
Id. : Sang frais					non décelé dans 5 cm ³
<i>Mollusques :</i>					
Poulpe : Bras	27	7 gr.	0,076	10,9	2,94
Id : Foie et vésicule biliaire.	41	5 gr.	0,020	4	1,64
	(avec huile)				
<i>Tuniciers :</i>					
<i>Ascidia mentula</i> (corps sans la cavité digestive).	9,7	1 gr. 55	0,220	142	13,8
Id.		0 gr. 50	0,050	100	
Id.		0 gr. 50	0,040	80	
Id. : Tunique.		1 gr. 0	0,025	25	

Dans les tissus des poissons, l'Al est plus abondant que dans ceux des herbivores. Mais on ne voit pas de localisation très marquée du métal si ce n'est dans le foie et dans le vitellus

(1) L'huile du foie a été rejetée.

de l'œuf de roussette. On sait déjà que ce dernier est très riche en matières minérales (S. Ranzi [74]).

Dans les autres animaux marins analysés la teneur en Al s'est encore élevée. C'est un fait assez commun que la teneur en éléments rares augmente au fur et à mesure que l'on descend dans l'échelle animale (Mn, Zn, Ti...) [15].

Pour les tuniciers (*Ascidia mentula*) la teneur en Al est vraiment surprenante. On pourrait penser que l'on a entraîné du sable dans le dosage. Cependant, l'animal est très bien protégé par sa tunique et il est aisé de séparer la cavité digestive du reste du corps. (Ce résultat rappelle celui de Schütze pour une autre espèce de tuniciers).

On peut d'ailleurs appliquer directement à ces animaux la méthode adaptée aux Plantes. Rien n'est plus facile que de doser l'Al dans 0 gr. 4 à 0 gr. 5 de tissu sec d'*Ascidia mentula* par ce procédé très simple. Par calcination, on obtient des cendres rougeâtres. La grande quantité relative de Va qu'elles renferment est complètement éliminée avec le Fe par le cupferron en milieu acide.

Nous avons souvent répété ce dosage et nos chiffres étaient compris entre 80 et 150 mgr. par kgr. de matière sèche.

Ce pouvoir de concentration vis-à-vis de l'Al est considérable ; répond-il à une fonction physiologique particulière comme l'accumulation du vanadium dans ces mêmes animaux ? C'est ce que l'expérience dira sans doute un jour.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Le problème posé au début de ce travail était l'identification et le dosage de l'aluminium contenu *normalement* dans les tissus des animaux.

I. — La première partie était une revue critique de diverses méthodes d'analyse déjà utilisées dans ce but ou susceptibles d'une telle application. Elles faisaient appel à la production de laques, à divers modes de précipitation de l'Al, ou même à la spectrographie. Nous avons montré qu'aucune d'entre elles ne présentait ces caractères de *simplicité* et de *certitude* que l'on est en droit d'exiger d'une analyse destinée à une application biologique générale. Dans ces recherches d'orientation où de longues séries de dosage s'offrent à l'activité du chimiste, nous pensons que ces deux qualités sont intimement liées : de la commodité dans l'exécution dépendent la régularité, la fidélité dans les résultats. C'est cette idée qui nous a guidé dans nos recherches analytiques.

II. — Nous avons vu comment la précipitation par le cupferron de l'Al aux grandes dilutions pouvait servir à un dosage opacimétrique de ce métal, même en présence d'électrolytes étrangers. Mais derrière cette détermination c'est le dosage opacimétrique *type* que nous avons eu en vue. Sans doute nous n'apportons pas à ce point de vue de fait vraiment nouveau. Mais, pour obtenir dans cette sorte d'analyse une approximation très satisfaisante, nous avons dû préciser des travaux ébauchés,

des idées qui étaient « dans l'air ». Nous avons montré que pour réussir un dosage opacimétrique, il faut :

- 1° S'adresser à un colloïde ;
- 2° Obéir aux lois de son évolution.

Le corps choisi se prêtait sans doute particulièrement bien à l'opacimétrie. Mais il ne sera pas seul ; et dans l'avenir nous pensons que, pour des cas analogues, on pourra s'inspirer utilement de notre étude.

Celle-ci n'a pu être menée à bien qu'à l'aide d'un instrument approprié. Et là encore il y avait beaucoup à gagner en commodité et en certitude dans la réalisation de l'opacimètre pratique pour le laboratoire de chimie. Les cellules photoélectriques nous ont tenté et longtemps déçu. Plusieurs mois de recherches nous ont finalement conduit à construire un appareil tout à fait particulier, à la fois *simple* et *fidèle*. Nous croyons d'ailleurs qu'avec les couples photoélectriques au sélénium, dont l'utilisation est très aisée, mais délicate, on n'obtiendra une bonne précision qu'en se conformant aux précautions que nous avons décrites. Elles se résument en quelques mots : ne pas faire varier pendant la mesure le flux lumineux ni en surface, ni en intensité (1).

Nous avons dû rechercher ensuite un mode d'élimination convenable des métaux gênants. L'entraînement des précipités organométalliques dans un solvant non miscible s'est montré très satisfaisant. C'est là un procédé analytique susceptible de généralisation.

Une première application biologique de ces recherches, le dosage de l'Al dans les tissus végétaux, a été très encourageante. On a pu doser l'Al dans 0 gr. 5 à 1 gr. de tissu végétal sec, avec une très bonne approximation (3 à 5 p. 100).

(1) Ce travail terminé, nous avons eu la satisfaction en parcourant le traité de Boutry [26], en cours de parution, d'y voir préciser ces mêmes conclusions sur ces « instruments d'avenir » que sont les couples photoélectriques.

Mais la pauvreté relative des tissus animaux, qui conduit à prendre de 5 à 10 gr. de matière sèche par essai, nous a obligé à compléter encore la méthode d'analyse. Une première séparation de l'Al était nécessaire. Nous en avons recherché les meilleures conditions. Il nous a fallu enfin choisir un mode de destruction convenable de la matière organique. Nous avons adopté l'attaque par les acides sulfurique, nitrique et perchlorique, qui est rapide, exige peu d'acide et ne donne lieu à aucune perte appréciable de métal.

III. — Dans la troisième partie de ce mémoire nous donnons les résultats obtenus par application de notre méthode d'analyse à des organes d'herbivores, et à divers animaux marins. Sur une centaine d'analyses (1) nous n'avons eu que 2 résultats négatifs (lait de vache et blanc d'œuf). Dans tous les autres cas nous avons trouvé de l'Al, mais en quantités assez variables. Dans les herbivores, les parties les plus riches sont les muqueuses du tube digestif. La distribution du métal entre le muscle et la muqueuse linguale obéit à la loi trouvée relativement au Mn, au Pb, Sn et Zn par G. Bertrand et ses collaborateurs. Chez le cheval et la vache, la muqueuse linguale contient respectivement 8 mgr. et 5 mgr. 2 d'Al (par kilogramme de matière sèche) et le muscle sous-jacent 1,6 et 1 mgr. 2. Mais les muqueuses de l'estomac et de l'intestin sont parfois encore plus riches (10 à 30 mgr. pour les mêmes animaux). Les glandes digestives, la cervelle, le cœur, la rate, etc..., ont des teneurs assez voisines comprises entre 2 et 6 mgr. (même notation) sauf le pancréas qui renferme jusqu'à 16 mgr. d'Al (cheval) et qui est toujours plus riche que le foie (cheval, bœuf, porc, mouton).

Nous n'avons pas étudié avec autant de détails la répartition de l'Al dans les organes des animaux marins. D'une façon générale, on peut dire que les poissons sont plus riches que les herbivores et que les crustacés le sont encore davantage.

(1) Nous avons le plus souvent répété nos dosages.

Nous avons rattaché cette constatation au cas d'autres métaux rares, en particulier du Ti. Enfin, chez *Ascidia Mentula*, la proportion d'Al est considérable en regard des chiffres précédents (jusqu'à 140 mgr. par kilogramme de matière sèche).

L'Al est donc bien un élément constant de la matière animale, comme de la matière végétale ; mais il est de 50 à 100 fois moins abondant dans la première. Par son importance quantitative il se range, dans les tissus animaux, immédiatement au-dessous du Cu, dont le rôle physiologique est bien connu maintenant. A ce point de vue, on ne peut encore rien affirmer de l'Al. Mais nous croyons que les premiers résultats que nous apportons aujourd'hui pourront un jour rendre dans ce domaine quelque service.

BIBLIOGRAPHIE

1. F. ALTEN, WEILAND et LOOFMANN. — Colorimetrische Aluminium Bestimmung. *Angew. Chem.*, 1935, **46**, 668.
2. F. ALTEN, WEILAND et KNIPPENBERG. — Die colorimetrische Al Bestimmung mit eriochromcyanine : I. *Ztschr. für Anal. Chem.*, 1934, **96**, 91.
3. F. ALTEN, WANDROVSKI et HILLE. — Die colorimetrische Al Bestimmung mit eriochromcyanine : II. *Angew. Chemie*, 1935, **48**, 273.
4. W. ATACK. — A new reagent for the detection and colorimetric estimation of Aluminum. *Jour. Soc. Chem. Ind.*, 1915, **34**, 936.
5. G. ANTOINE. — Répartition des poussières siliceuses dans les poumons. *J. Ph. et Ch.*, 1935, **22**, 412.
6. AZÉMA et PIED. — Recherches du Va dans le sang des tuniciers. *Comptes Rendus*, 1930, **190**, 222.
7. BARRAL. — Statique chimique des animaux, 1850.
8. O. BAUDISCH. — *Ch. Zeits.*, 1909, **33**, 1238.
9. BATTACHARJEE. — Contribution à la biochimie du Zn. *Thèse Paris* (1934).
10. BEHRENS. — Méthode nouvelle d'analyse microchimique des végétaux. *Rec. Trav. Chim. des Pays-Bas*, 1887, **5**, 1.
11. BERTHELOT et ANDRÉ. *Ann. de Chimie et de Physique*, 1895 (7°), **5**, 429.
12. G. BERTRAND et MEDIGRECEANU. — Recherches sur la présence et la répartition du Mn dans les organes des animaux. *Bull. Soc. Chim.*, 1912 (4°) **11**, 837.
13. G. BERTRAND et MACHEBŒUF. — Recherches sur la présence du Ni et du Co dans les Animaux. *Bull. Soc. Chim.*, 1925 (4°), **37**, 934.
14. G. BERTRAND et MACHEBŒUF. — *Comptes Rendus Ac. Sc.*, 1926, **183**, 5.
15. G. BERTRAND et M. VORONCA SPIRT. — (Titane). *Ann. Inst. Pasteur*, 1930, **45**, 102.
16. G. BERTRAND et Mme LÉVY. — Recherches sur la teneur des plantes, et, notamment des plantes alimentaires, en aluminium. *Bull. Soc. Chim.*, 1931, **192**, 780.
17. G. BERTRAND et CIURÉA. — L'étain dans l'organisme des animaux. *Comptes Rendus*, 1931, **192**, 780.

18. G. BERTRAND et CIURÉA. — Le plomb dans l'organisme des animaux. *Comptes Rendus*, 1931, **192**, 990.
19. G. BERTRAND et SERBESCU. — Sur la toxicité de l'Al comparée à celle du Fe, du Ni et d'autres métaux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1931, **47**, 451.
20. G. BERTRAND et SERBESCU. — L'ingestion journalière de petites quantités d'Al favorise-t-elle le cancer ? *C. R.*, 1934, **198**, 1100.
21. G. BERTRAND. — Sur le rôle physiologique du Zn chez les animaux. *Bull. Soc. Ch.*, 1936, **18**, 213.
22. BLUM. — The determination of Al as oxyde. *J. Am. Ch. Soc.*, 1916, **38**, 1282.
- 22 bis. BIBRA (von). — Sur la chair musculaire de l'homme et des animaux vertébrés (cité par Quinton). *Gaz Méd. de Paris*, 1846, 334.
23. A. BOUTARIC. — Travaux résumés in *Les Colloïdes et l'Etat colloïdal*. 4 vol., Paris, 1931.
24. A. BOUTARIC. — Remarques sur la comparaison entre la lumière diffusée et la lumière transmise par les milieux troubles. *Rev. d'Opt. Th. et Inst.*, 1932, **11**, 145.
25. A. BOUTARIC. — Remarques sur l'étude des transformations pouvant se produire dans les milieux troubles. *Bull. Soc. Chim.*, 1931, **49** (40), 389.
26. G. A. BOUTRY. — *Les phénomènes photo-électriques et leurs applications*. 5 fascicules parus, Hermann, 1935 et 1936.
27. H. T. S. BRITTON. — 4 mémoires, in *Journ. of Chim. Soc.*, 1925, **127** 2110-2159.
28. E. CANALS et HORTALA. — De l'emploi de la cellule photo-électrique en néphélémétrie. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, 1933, **15**, 1535.
- 28 bis. E. CANALS et HORTALA. — A propos des essais colorimétriques. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, 1932, **14**, 1273.
29. CARNOT. — Recherches et dosage de très petites proportions d'Al dans les fontes et dans les aciers. *Bull. Soc. Ch.*, 1891, **5** (30), 139.
30. CATTelain. — *J. Ph. Ch.*, 1928, **2**, 525.
31. C. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT. — Sur quelques propriétés optiques des milieux troubles. *Ann. Phys.*, 1920 (9), **13**, 134-161.
32. G. COX, SCHWARTZE, HANN et UNANGST. — Determination of Al in organic materials. *Ind. and engin. Chem.*, 1932, **24**, 403.
33. DE BROUCKÈRE et BELCKE. — Sur le dosage colorimétrique de l'Al par le procédé Martin. *Bull. Soc. Chim. de Belgique*, 1927, **36**, 288.
34. DEE TOURNELOTTE et O. S. RASK. — *Ind. and Eng. Chem. Anal. Edition*, 1932, **3**, 97.
35. DELACHANAL et MERMET. — Analyse d'un calcul intestinal d'esturgeon. *Bull. Soc. Chim.*, 1874, **22**, 62.
36. R. DUBOIS. — *Leçons de physiologie générale et comparée*. 1 vol., 530 pages, Paris, 1898.
37. E. EGRIVE. — *Zeit. Anal. Chem.*, 1929, **76**, 438.

38. D. F. EVELETH et V. C. MYERS. — Studies on the determination of Al in animal tissues. *Journ. of Biol. Chem.*, 1933, **100**, 42.
39. F. FEIGL. — *Qualitative analyse mit hilfe von tüpfel reaktionen*, 2^e édition, Leipzig, 1935, 1 vol. 500 pages.
40. FÉRY. — Spectrophotomètre à absorption. *Journ. de Phys.*, 1910, **9**, 849.
41. H. FISCHER. — *Angew. Chem.*, 1934, **47**, 685.
42. P. FLEURY. — Recherches de photométrie et de spectrophotométrie photo-électriques. *Revue d'Opt.*, 1932, **11**, 385-398.
43. P. FLEURY. — Un « électrophotomètre de précision ». *Ann. du Conserv.*, 1934 (4^o), 285.
44. P. FLEURY et BOUTRY. — Sur la mesure précise des densités photographiques. *C. R. Ac. Sc.*, 1933, **196**, 1013.
45. GONNERMANN. — Contribution à la connaissance de la biochimie de l'alumine et de la silice. *Bioch. Zeit.*, 1918, **88**, 401.
46. A. GOUDSMIT et SUMMERSON. — Un nouveau type de colorimètre photo-électrique. *Journ. of Biol. Chem.*, 1935, **111**, 421.
47. HAMMETT et SOTTERY. — A new reagent for aluminum. *J. Am. Chem. Soc.*, 1925, **47**, 142.
48. H. W. HARWEY. — *Biological Chemistry and physics of sea-water*. 1 vol., 1928, Cambridge.
49. JUNG. — *Zeit. für Pflanz. Düngen*, 1932, **26a**, 1 à 8.
50. JOLIBOIS. — La précipitation (Conférence). *Bull. Soc. Chim.*, 1934, **1** (5^o), 597.
51. E. KAHANE. — L'action de l'acide perchlorique sur les Matières organiques. *Act. Sc. et Ind.*, Hermann, 1934, n^{os} 167 et 168.
52. L. KALHENBERG et CLOSS. — Presence of Al in animal and plant matter. *Journ. of Biol. Chem.*, 1929, **83**, 261.
53. L. KALHENBERG et CLOSS. — Présence of Al in animal and plant matter. *Journ. of Biol. Chem.*, 1931, **85**, 783.
54. G. KARBER. — *Arch. für Exp. Path. und Pharm.*, 1933, **173**, 697.
55. C. F. LANGWORTHY et AUSTEN. — *Occurence of Al in vegetable products animal products and natural waters*. 1 vol., New-York, 1904.
56. LEGENDRE. — *La concentration en ions hydrogène de l'eau de mer*. 1 vol., Paris, 1925.
57. K. B. LEHMANN. — *Arch. für Hyg.*, 1931, **106**, 309.
58. K. B. LEHMANN. — *Arch. für Hygiene*, 1934, **106**, 336.
59. LEHRMANN, KABAT et WEISBERG. — *Journ. Am. Ch. Soc.*, 1933, **55**, 3509.
60. A. LESURE, THOMAS et LAVAGNE. — Les cellules photoélectriques et leurs applications en chimie biologique. *Journ. Pharm. et Ch.*, 1933 (8), **17**, 5 et 49.
61. LÉVY (Mme). — La présence, la répartition et le rôle de l'Al chez les végétaux. *Thèse Doct. Univ.*, Paris, 1931.
62. S. J. LEWIS. — The assimilation of Al by the Human System. *Biol. Journ.*, 1931, **55**, 2162.

63. R. LINDEMANN. — *Zeit. f. Physik*, 1933, **95**, 6-29.
64. LUNDELLE et KNOWLES. — The use of cupferron in quantitative analyse. *Ind. and Engin. Chem.*, 1920, **12**, 344.
65. MAC COLLUM, RASK et BECKER. — A study of the possible role of Al compounds in animal and plant physiology. *Journ. of Biol. Chem.*, 1928, **77**, 733.
66. MAC COLLUM, RASK et BECKER. — Do the spectrograms of Kalhenberg and Closs demonstrate the presence of Al? *Journ. of Biol. Chem.*, 1930, **85**, 779.
67. K. MACKENSIE. — Biochimie de l'Aluminium. *Bioch. Journ.*, 1930, **24**, 1433 (sur le porc) et même journal, 1931, **25**, 285 et 1932, **26**, 833 (sur le rat).
68. P. MEUNIER. — Un électrophotomètre à cellules à couche d'arrêt destiné à l'opacimétrie pratique. *Comptes Rendus*, 1935, **201**, 1371.
69. P. MEUNIER. — Nouvelle méthode de dosage de très petites quantités d'Al dans des milieux complexes (Appl. aux végétaux). *Comptes Rendus*, 1934, **199**, 1250.
70. V. C. MYERS, MULL et MORRISON. — The estimation of Al in animal tissues. *Journ. of Biol. Chem.*, 1928, **78**, 595.
71. PINKUS et MARTIN. — Sur les solubilités des dérivés métalliques de la nitrosophénylhydroxylamine. *Journ. de Chim. Phys.*, 1927, **24**, 83 et 137.
72. PRIDEAUX. — *The theory and use of indicators*. 1 vol. 360 pages, Londres, 1927.
73. R. QUINTON. — *L'eau de mer milieu organique*. 1 vol. 500 pages, Paris, 1904.
74. S. RANZI. — *Atti. acad. Pontif. sci. nuovi Lincei*, 1932, **86**, 36.
75. P. RAY et CHATTOPADHYA. — *Zeit. anorg. allg. Chem.*, 1928, **169**, 99.
76. P. RAY. — *Zeits. anal. Ch.*, 1931, **86**, 13.
77. G. SCHÆFFER, FONTÈS, LE BRETON, OBERLING, THIVOLLE. — Recherches physiologiques sur les levains minéraux. *Bull. Soc. Sc. d'Hyg. alim.*, 1928, **16**, 1.
78. R. SCHÜTZE. — *Ueber Tiercellulose Mitteilungen aus dem pharmaz. Inst. Erlangen*, 1883.
79. SCHMIDT et HOAGLAND. — The determination of Al in feces. *Journ. of Biol. Chem.*, 1912, **11**, 387.
80. A. SEVAUX. — Emploi du comparateur photoélectrique pour le dosage de petites quantités d'arsenic. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **115**, 377.
81. E. E. SMITH. *Aluminum compounds in food*. 1 vol., New-York, 1928, 380 pages.
82. STEEL. — On the absorption of Al from aluminized food. *Am. Journ. of Physiol.*, 1911, **28**, 94-101.
83. STEUDEL. — Biologie de l'Al. *Bioch. Zeit.*, 1930, **220**; 1932, **253**, 387.
84. P. SWINGS. — *La spectroscopie appliquée*. 1 vol., Paris, 1934.

85. THRUN. — *Journ. of Phys. Chem.*, 1929, **33**, 977.
- 85 bis. F. TWYMAN et LOTHIAN. — Conditions for securing accuracy in spectrophotometry. *The Proceed. of Phys. Soc.*, 1933, **45**, 643-663.
86. UNDERHILL et PETERMANN. — 8 Mémoires, in : *The Am. Journ. of Phys.*, 1929, **90**, 1-83.
87. WINTER, BIRD et THRUN. — Détermination de l'Al dans les plantes (et aliments d'origine animale). Méthode. *Journ. of Am. Ch. Soc.*, 1929, **51**, 2721 ; Résultats, *Id.*, 1929, **51**, 2964.
88. F. WIRTH. — La solubilité des sulfates de Fe et d'Al dans l'acide sulfurique. *Zeit. für Anorg. Ch.*, 1933, **79**, 360.
89. J. WÜHRER. — Etude de la rétention des composés d'Al, compte tenu des teneurs normales en Al des tissus animaux. *Bioch. Zeit.*, 1933, **265**, 169.
90. YOE et HILL. — *Journ. of Am. Soc.*, 1927, **49**, 2395.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.	1

PREMIÈRE PARTIE

Travaux antérieurs. Exposé. Examen critique.

CHAPITRE PREMIER. — Exposé des recherches effectuées sur l'Al des tissus animaux	5
CHAPITRE II. — Examen critique des méthodes citées	11
CHAPITRE III. — Méthodes non encore appliquées aux animaux . . .	20

DEUXIÈME PARTIE

Etablissement et description de la méthode d'analyse adoptée.

CHAPITRE PREMIER. — Etude de la précipitation de l'Al par le cup- ferron aux grandes dilutions	23
CHAPITRE II. — Approximation obtenue. Construction d'un électro- photomètre à coin. Conclusions pratiques générales	30
CHAPITRE III. — Elimination des métaux gênants	40
CHAPITRE IV. — Dosage de l'Al dans les plantes. Essais d'application directe aux tissus animaux	43
CHAPITRE V. — Isolement des phosphates de Fe et d'Al. Comparaison de divers procédés.	49
CHAPITRE VI. — Destruction des matières organiques	52
CHAPITRE VII. — Description complète de la méthode adoptée . . .	57

TROISIEME PARTIE

Applications aux tissus animaux.

CHAPITRE PREMIER. — Les Herbivores	63
CHAPITRE II. — Les animaux marins	69
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS	73
BIBLIOGRAPHIE	77

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

**Applications en chimie biologique de la formule dite
d'allométrie.**

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 15 juin 1936,

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

CH. MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

